#### (19) 世界知的所有権機関 国際事務局





(43) 国際公開日 2004年6月10日(10.06.2004)

**PCT** 

## (10) 国際公開番号 WO 2004/048566 A1

(51) 国際特許分類<sup>7</sup>: C12N 15/09, G06F 17/30, 17/40, 17/50

(21) 国際出願番号: PCT/JP2003/014893

(22) 国際出願日: 2003年11月21日(21.11.2003)

(25) 国際出願の言語: 日本語

(26) 国際公開の言語: 日本語

(30) 優先権データ: 特願 2002-340053

2002年11月22日(22.11.2002)

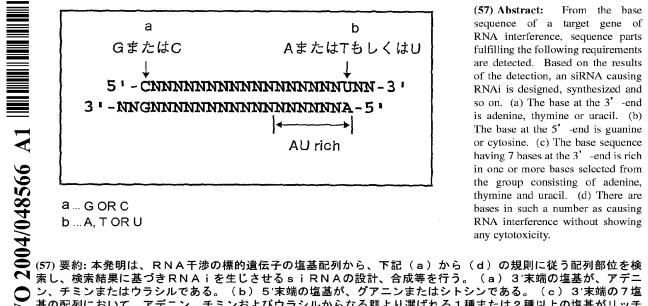
(71) 出願人(米国を除く全ての指定国について): 名取 幸和 (NATORI,Yukikazu) [JP/JP]; 〒220-0012 神奈川 県 横浜市西区 みなとみらい 4-1 0-1-E 1 7 0 6 Kanagawa (JP).

- (71) 出願人 および
- (72) 発明者: 西郷 薫 (SAIGO, Kaoru) [JP/JP]; 〒168-0063 東京都 杉並区 和泉 4-3 1-7 Tokyo (JP). 程 久美子 (TEI,Kumiko) [JP/JP]; 〒113-0023 東京都 文京区 向 丘 1-3-1 メゾン文京 5 0 4 Tokyo (JP). 内藤 雄樹 (NAITO,Yuki) [JP/JP]; 〒102-0082 東京都 千代田区 -番町 6-4-1 0 2 Tokyo (JP).
- (74) 代理人: 酒井 宏明 (SAKALHiroaki); 〒100-0013 東京 都 千代田区 霞が関三丁目2番6号 東京倶楽部ビル ディング Tokyo (JP).
- (81) 指定国(国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

/続葉有/

(54) Title: METHOD OF DETECTING TARGET BASE SEQUENCE OF RNA INTERFERENCE. METHOD OF DE-SIGNING POLYNUCLEOTIDE BASE SEQUENCE CAUSING RNA INTERFERENCE, METHOD OF CONSTRUCTING DOUBLE-STRANDED POLYNUCLEOTIDE, METHOD OF REGULATING GENE EXPRESSION, BASE SEQUENCE PROCESSING APPARATUS, PROGRAM FOR RUNNING BASE SEQUENCE PROCESSING METHOD ON COMP

(54)発明の名称: RNA干渉の標的塩基配列検索方法、RNA干渉を生じさせるポリヌクレオチドの塩基配列設計 方法、2本鎖ポリヌクレオチドの作製方法、遺伝子の発現抑制方法、塩基配列処理装置、塩基配列処理方法をコン ピュータに実行させるプログラム、記録媒体、および、塩基配列処理システム



(57) Abstract: From the base

ン、チミンまたはウラシルである。(b)5'末端の塩基が、グアニンまたはシトシンである。(c)3'末端の7塩 基の配列において、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチ である。(d)塩基数が、細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせ得る数である。





# WO 2004/048566 A1

(84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

#### 明細書

RNA干渉の標的塩基配列検索方法、RNA干渉を生じさせるポリヌクレオチドの塩基配列設計方法、2本鎖ポリヌクレオチドの作製方法、遺伝子の発現抑制方法、塩基配列処理装置、塩基配列処理方法をコンピュータに実行させるプログラム、記録媒体、および、塩基配列処理システム

## 技術分野

5

15

25

本発明は、RNA干渉(RNA interference)に関し、詳しく 10 は、RNA干渉を利用した試験、製造などの効率を向上させる、RNA干渉を生 じさせるポリヌクレオチドの配列設計方法等に関する。以下本明細書においてR NA干渉のことを「RNAi」と表記する場合がある。

また、本発明は、塩基配列処理装置、塩基配列処理方法をコンピュータに実行させるプログラム、記録媒体、および、塩基配列処理システムに関し、特にRN A干渉の標的遺伝子の塩基配列から、標的遺伝子に対してRNA干渉を生じさせる塩基配列を効率よく選択することができる塩基配列処理装置、塩基配列処理方法をコンピュータに実行させるプログラム、記録媒体、および、塩基配列処理システムに関する。

#### 20 背景技術

RNA干渉は、機能阻害したい遺伝子の特定領域と相同なセンスRNAとアンチセンスRNAからなる2本鎖RNA(double-stranded RNA、以下「dsRNA」という)が標的遺伝子の転写産物であるmRNAの相同部分を干渉破壊するという現象で、1998年に線虫を用いた実験により初めて提唱された。しかし、哺乳類においては、約30塩基対以上の長いdsRNAを細胞内へ導入すると、インターフェロンレスポンスが誘導され、細胞がアポトーシスによって死んでしまうため、RNAi法を用いることが困難であった。

一方、マウス初期胚や哺乳類培養細胞では、RNA干渉が起こりえることが示

2

され、RNA干渉の誘導機構そのものは、哺乳類細胞にも存在することがわかってきた。現在では、およそ $21\sim23$ 塩基対の短い2本鎖RNA(short interfering RNA、siRNA)が、哺乳類細胞系でも細胞毒性を示さずにRNA干渉を誘導できることが示され、哺乳類においてもRNAi法を利用することが可能となってきている。

#### 発明の開示

10

15

20

25

RNAi法は様々な応用が期待される技術である。しかし、ショウジョウバエや線虫では、ある遺伝子の特定領域と相同なdsRNAおよびsiRNAは、ほとんどの配列でRNA干渉効果を示すのに対して、哺乳類では無作為に選択した(21塩基の)siRNAの70~80%はRNA干渉効果を示さない。これは、哺乳類においてRNAi法を用いた遺伝子機能解析を行う際に大きな問題点となっている。

また、従来siRNAを設計するにあたっては、試験者等の経験やセンスに依存する部分が大きく、実際にRNA干渉効果を示すsiRNAを高い確率で設計することが困難であった。さらに、RNA合成は、費用、時間等を要することから、RNA干渉を行うために無駄なsiRNAを合成してしまうことは、RNA干渉のさらなる研究や、RNA干渉を利用した数々の利用法の普及を妨げる要因となっていた。

以上のような状況の下、RNAi法をより簡便に効率よく行うことができる手段を提供することを課題とする。

本発明者らは、上記課題を解決するために、RNAi法を用いる際最も労力、時間、費用を要する部分の1つである、siRNAの入手を容易に行う手法について検討を進めた。siRNAの調製は哺乳類において特に問題となっていることから、本発明者らは哺乳類培養細胞系を用いて、RNA干渉に有効なsiRNAの配列規則性を同定することを試みたところ、有効なsiRNAの配列には所定の規則性があることを見いだし、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明は、次の通りである。

[1] RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列から、下記(a)から(d)の規則に従う配列部位を検索する、RNA干渉の標的塩基配列の検索方法。

3

- (a) 3'末端の塩基が、アデニン、チミンまたはウラシルである。
- (b) 5 末端の塩基が、グアニンまたはシトシンである。
- 5 (c) 3'末端の7塩基の配列において、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチである。
  - (d) 塩基数が、細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせ得る数である。
  - [2] 前記規則(c)において、7塩基のうち少なくとも3塩基以上がアデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上である、
- 10 上記〔1〕に記載の標的塩基配列の検索方法。

15

- [3] 前記規則(d)において、塩基数が13~28である、上記[1]または[2]に記載の標的塩基配列の検索方法。
- [4] 下記(a)から(d)の規則に従う塩基配列を標的遺伝子の塩基配列から検索し、検索された塩基配列と相同な塩基配列を設計する、RNA干渉を生じさせるポリヌクレオチドの塩基配列設計方法。
  - (a) 3'末端の塩基が、アデニン、チミンまたはウラシルである。
  - (b) 5'末端の塩基が、グアニンまたはシトシンである。
- (c) 3 末端の7塩基の配列において、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチである。
- 20 (d) 塩基数が、細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせ得る数である。
  - [5] 前記規則(c)において、7塩基のうち少なくとも3塩基以上がアデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上である、上記[4]に記載の塩基配列設計方法。
- [6] 設計される相同な塩基配列の塩基数が13~28である、上記[4]ま 25 たは[5]に記載の塩基配列設計方法。
  - [7] 前記設計される相同な塩基配列の少なくとも80%以上の塩基が検索された塩基配列と一致するように設計する、上記[4]から[6]のいずれか一項に記載の塩基配列設計方法。

- [8] 検索された塩基配列の3、末端の塩基と設計される塩基配列の3、末端の塩基とが同一であり、かつ、検索された塩基配列の5、末端の塩基と設計される塩基配列の5、末端の塩基と設計される塩基配列の5、末端の塩基とが同一である、上記[4]から[7]のいずれか一項に記載の塩基配列設計方法。
- 5 [9] ポリヌクレオチドの3'末端に、オーバーハング部位を付加する、上記 [4] から [8] のいずれか一項に記載の塩基配列設計方法。
  - [10] 2本鎖ポリヌクレオチドの作製方法であって、

一方の鎖が、標的遺伝子の塩基配列中に含まれる、下記(a)から(d)の規則に従う規定配列と相同な塩基配列の3<sup>\*</sup>末端にオーバーハング部を設けて形成され、

他方の鎖が、前記規定配列と相同な塩基配列と相補的な配列の3°末端にオーバーハング部を設けて形成され。

各鎖の塩基数が15~30であるように設計された2本鎖ポリヌクレオチドを合成する、2本鎖ポリヌクレオチドの作製方法。

- 15 (a) 3'末端の塩基が、アデニン、チミンまたはウラシルである。
  - (b) 5,末端の塩基が、グアニンまたはシトシンである。
  - (c) 3 末端の7塩基の配列において、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチである。
  - (d) 塩基数が、細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせ得る数である。
- 20 [11] RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列中から下記(a)から(d)の規則に従う塩基数13~28の配列部位を検索し、一方の鎖が、標的遺伝子の塩基配列中に含まれる、下記(a)から(d)の規則に従う規定配列と相同な塩基配列の3、末端にオーバーハング部を設けて形成され、他方の鎖が、前記規定配列と相同な塩基配列と相補的な配列の3、末端にオーバーハング部を設けて形成され、各鎖の塩基数が15~30であるように合成された、2本鎖ポリヌクレオチド。
  - (a) 3'末端の塩基が、アデニン、チミンまたはウラシルである。
  - (b) 5 末端の塩基が、グアニンまたはシトシンである。

(c) 3 末端の7塩基の配列において、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチである。

5

- (d) 塩基数が、細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせ得る数である。
- [12] RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列中から下記(a)から(d)の規則に従う塩基数13~28の配列部位を検索する工程と、
  - 一方の鎖が、標的遺伝子の塩基配列中に含まれる、下記(a)から(d)の規則に従う規定配列と相同な塩基配列の3、末端にオーバーハング部を設けて形成され、他方の鎖が、前記規定配列と相同な塩基配列と相補的な配列の3、末端にオーバーハング部を設けて形成され、各鎖の塩基数が15~30であるように設計された2本鎖ポリヌクレオチドを合成する工程と、

合成された2本鎖ポリヌクレオチドを、発現を抑制しようとする標的遺伝子の発 現系に添加して標的遺伝子の発現を抑制する工程と、

を含む、遺伝子発現抑制方法。

10

- (a) 3'末端の塩基が、アデニン、チミンまたはウラシルである。
- 15 (b) 5'末端の塩基が、グアニンまたはシトシンである。
  - (c) 3 末端の7塩基の配列において、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチである。
  - (d) 塩基数が、細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせ得る数である。
- [13] RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を取得して、上記塩基配列情報の予め定めた塩基数の配列部位である部分塩基配列情報を作成する部分塩基配列作成手段と、上記部分塩基配列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情報の3,末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであるか否かを判定する3,末端塩基判定手段と、上記部分塩基配列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情報の5,末端の上記塩基がグアニン、または、シトシンであるか否かを判定する5,末端塩基判定手段と、上記部分塩基配列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情報の上記3,末端の7塩基からなる上記塩基配列情報が、上記アデニン、上記チミン、および、上記ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の上記塩基がリッチな上記塩基配列情報であるか否かを判定する特

定塩基含有判定手段と、上記3<sup>\*</sup>末端塩基判定手段、上記5<sup>\*</sup>末端塩基判定手段、および、上記特定塩基含有判定手段にて判定された結果に基づいて、上記部分塩基配列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情報から上記標的遺伝子に特異的に上記RNA干渉を生じさせる規定配列情報を選択する規定配列選択手段とを備えたことを特徴とする塩基配列処理装置。

- [14] 上記部分塩基配列作成手段は、上記塩基配列情報の上記標的遺伝子のコード領域、または、転写領域に対応する部位から、上記予め定めた上記塩基数の上記部分塩基配列情報を作成する領域指定塩基配列作成手段をさらに備えたことを特徴とする[13]に記載の塩基配列処理装置。
- 10 [15] 上記部分塩基配列作成手段は、異なる生物に由来する複数の上記塩基配列情報の間で共通する、上記予め定めた上記塩基数の上記部分塩基配列情報を作成する共通塩基配列作成手段をさらに備えたことを特徴とする[13]または[14]に記載の塩基配列処理装置。
- [16] 上記リッチな上記塩基配列情報は、上記7塩基からなる上記塩基配列情報が、上記アデニン、上記チミン、および、上記ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の上記塩基が少なくとも3塩基以上含まれる上記塩基配列情報であることを特徴とする[13]から[15]のいずれか一つに記載の塩基配列処理装置。
- 〔17〕 上記予め定めた上記塩基数は、13~28であることを特徴とする〔13〕から〔16〕のいずれか一つに記載の塩基配列処理装置。
  - [18] 上記部分塩基配列作成手段は、オーバーハング部位を含む上記部分塩 基配列情報を作成するオーバーハング部位含有塩基配列作成手段をさらに備えた ことを特徴とする[13]から[17]のいずれか一つに記載の塩基配列処理装 置。
- 25 〔19〕 上記規定配列情報の少なくとも一方の末端に上記オーバーハング部位 を付加するオーバーハング部位付加手段を備えたことを特徴とする〔13〕から 〔17〕のいずれか一つに記載の塩基配列処理装置。
  - [20] 上記オーバーハング部位の塩基数は、2であることを特徴とする[1

7

8〕または〔19〕に記載の塩基配列処理装置。

5

20

25

- [21] 上記規定配列情報と同一または類似の上記塩基配列情報を他の上記塩 基配列情報から検索する同一類似塩基配列検索手段と、上記同一類似塩基配列検 索手段にて検索された上記同一または上記類似の上記塩基配列情報に基づいて、
- 上記規定配列情報が上記標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評価する無関係遺伝子標的評価手段とを備えたことを特徴とする [13] から [20] のいずれか一つに記載の塩基配列処理装置。
- [22] 上記無関係遺伝子標的評価手段は、上記同一類似塩基配列検索手段にて検索された上記同一または上記類似の上記塩基配列情報のうち上記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子の上記塩基配列情報の総数、および、上記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子の上記塩基配列情報に付された同一類似の度合いを示す値に基づいて、上記同一類似の度合いを示す値の逆数の総和を算出する総和算出手段と、上記総和算出手段にて算出された上記総和に基づいて、上記規定配列情報が上記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子を標的にするか否かを評価する総和基準標的評価手段とをさらに備えたことを特徴とする[21]に記載の塩基配列処理装置。
  - [23] RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を取得して、上記塩基配列情報の予め定めた塩基数の配列部位である部分塩基配列情報を作成する部分塩基配列作成工程と、上記部分塩基配列作成工程にて作成された上記部分塩基配列情報の3、末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであるか否かを判定する3、末端塩基判定工程と、上記部分塩基配列作成工程にて作成された上記部分塩基配列情報の5、末端の上記塩基がグアニン、または、シトシンであるか否かを判定する5、末端塩基判定工程と、上記部分塩基配列作成工程にて作成された上記部分塩基配列情報の上記3、末端の7塩基からなる上記塩基配列情報が、上記アデニン、上記チミン、および、上記ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の上記塩基がリッチな上記塩基配列情報であるか否かを判定する特定塩基含有判定工程と、上記3、末端塩基判定工程、上記5、末端塩基判定工程、および、上記特定塩基含有判定工程にて判定された結果に基づいて、上記部分

15

20

25

塩基配列作成工程にて作成された上記部分塩基配列情報から上記標的遺伝子に特異的に上記RNA干渉を生じさせる規定配列情報を選択する規定配列選択工程とを含む塩基配列処理方法をコンピュータに実行させることを特徴とするプログラム。

5 〔24〕 上記〔23〕に記載されたプログラムを記録したことを特徴とするコンピュータ読み取り可能な記録媒体。

[25] RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を処理する塩基配列処理装置 と、クライアント装置とをネットワークを介して通信可能に接続された塩基配列 処理システムにおいて、上記クライアント装置は、上記標的遺伝子の名称または 上記塩基配列情報を上記塩基配列処理装置に送信する塩基配列送信手段と、上記 塩基配列処理装置より送信された、上記標的遺伝子に特異的に上記RNA干渉を 生じさせる規定配列情報を取得する規定配列取得手段とを備え、上記塩基配列処 理装置は、上記クライアント装置より送信された上記標的遺伝子の名称に対応す る塩基配列情報または上記クライアント装置より送信された上記塩基配列情報を 取得して、上記塩基配列情報の予め定めた塩基数の配列部位である部分塩基配列 情報を作成する部分塩基配列作成手段と、上記部分塩基配列作成手段にて作成さ れた上記部分塩基配列情報の3、末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラ シルであるか否かを判定する3 末端塩基判定手段と、上記部分塩基配列作成手 段にて作成された上記部分塩基配列情報の5、末端の上記塩基がグアニン、また は、シトシンであるか否かを判定する5、末端塩基判定手段と、上記部分塩基配 列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情報の上記3 末端の7塩基からな る上記塩基配列情報が、上記アデニン、上記チミン、および、上記ウラシルから なる群より選ばれる1種または2種以上の上記塩基がリッチな上記塩基配列情報 であるか否かを判定する特定塩基含有判定手段と、上記3~末端塩基判定手段、 上記5 末端塩基判定手段、および、上記特定塩基含有判定手段にて判定された 結果に基づいて、上記部分塩基配列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情 報から上記規定配列情報を選択する規定配列選択手段と、上記規定配列選択手段

にて選択された上記規定配列情報を上記クライアント装置に送信する規定配列送

信手段とを備えたことを特徴とする塩基配列処理システム。

- RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を取得して、上記塩基配列情 報の予め定めた塩基数の配列部位である部分塩基配列情報を作成する部分塩基配 列作成工程と、上記部分塩基配列作成工程にて作成された上記部分塩基配列情報 の3 末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであるか否かを判定す る3 ? 末端塩基判定工程と、上記部分塩基配列作成工程にて作成された上記部分 塩基配列情報の5<sup>2</sup>末端の上記塩基がグアニン、または、シトシンであるか否か を判定する5'末端塩基判定工程と、上記部分塩基配列作成工程にて作成された 上記部分塩基配列情報の上記3'末端の7塩基からなる上記塩基配列情報が、上 記アデニン、上記チミン、および、上記ウラシルからなる群より選ばれる1種ま 10 たは2種以上の上記塩基がリッチな上記塩基配列情報であるか否かを判定する特 定塩基含有判定工程と、上記3 末端塩基判定工程、上記5 末端塩基判定工程 、および、上記特定塩基含有判定工程にて判定された結果に基づいて、上記部分 塩基配列作成工程にて作成された上記部分塩基配列情報から上記標的遺伝子に特 15 異的に上記RNA干渉を生じさせる規定配列情報を選択する規定配列選択工程と を含むことを特徴とする塩基配列処理方法。
  - [27] 上記部分塩基配列作成工程は、上記塩基配列情報の上記標的遺伝子のコード領域、または、転写領域に対応する部位から、上記予め定めた上記塩基数の上記部分塩基配列情報を作成する領域指定塩基配列作成工程をさらに含むことを特徴とする[26]に記載の塩基配列処理方法。
  - [28] 上記部分塩基配列作成工程は、異なる生物に由来する複数の上記塩基配列情報の間で共通する、上記予め定めた上記塩基数の上記部分塩基配列情報を作成する共通塩基配列作成工程をさらに含むことを特徴とする[26]または[27]に記載の塩基配列処理方法。
- 25 〔29〕 上記リッチな上記塩基配列情報は、上記7塩基からなる上記塩基配列情報が、上記アデニン、上記チミン、および、上記ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の上記塩基が少なくとも3塩基以上含まれる上記塩基配列情報であることを特徴とする〔26〕から〔28〕のいずれか一つに記載の塩

10

15

基配列処理方法。

- [30] 上記予め定めた上記塩基数は、13~28であることを特徴とする[26]から[29]のいずれか一つに記載の塩基配列処理方法。
- [31] 上記部分塩基配列作成工程は、オーバーハング部位を含む上記部分塩 基配列情報を作成するオーバーハング部位含有塩基配列作成工程をさらに含むことを特徴とする[26]から[30]のいずれか一つに記載の塩基配列処理方法
  - [32] 上記規定配列情報の少なくとも一方の末端に上記オーバーハング部位を付加するオーバーハング部位付加工程を含むことを特徴とする[26]から[30]のいずれか一つに記載の塩基配列処理方法。
  - [33] 上記オーバーハング部位の塩基数は、2であることを特徴とする[31] または[32] に記載の塩基配列処理方法。
  - [34] 上記規定配列情報と同一または類似の上記塩基配列情報を他の上記塩基配列情報から検索する同一類似塩基配列検索工程と、上記同一類似塩基配列検索工程と、上記同一類似塩基配列検索工程にて検索された上記同一または上記類似の上記塩基配列情報に基づいて、上記規定配列情報が上記標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評価する無関係遺伝子標的評価工程とを含むことを特徴とする[26]から[33]のいずれか一つに記載の塩基配列処理方法。
- [35] 上記無関係遺伝子標的評価工程は、上記同一類似塩基配列検索工程に 70 で検索された上記同一または上記類似の上記塩基配列情報のうち上記標的遺伝子 とは無関係の上記遺伝子の上記塩基配列情報の総数、および、上記標的遺伝子と は無関係の上記遺伝子の上記塩基配列情報に付された同一類似の度合いを示す値 に基づいて、上記同一類似の度合いを示す値の逆数の総和を算出する総和算出工程と、上記総和算出工程にて算出された上記総和に基づいて、上記規定配列情報 が上記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子を標的にするか否かを評価する総和基 準標的評価工程とをさらに含むことを特徴とする[34]に記載の塩基配列処理 方法。
  - [36] 上記部分塩基配列作成工程は、上記塩基配列情報の上記標的遺伝子の

- コード領域、または、転写領域に対応する部位から、上記予め定めた上記塩基数 の上記部分塩基配列情報を作成する領域指定塩基配列作成工程をさらに含むこと を特徴とする[23]に記載のプログラム。
- [37] 上記部分塩基配列作成工程は、異なる生物に由来する複数の上記塩基 5 配列情報の間で共通する、上記予め定めた上記塩基数の上記部分塩基配列情報を 作成する共通塩基配列作成工程をさらに含むことを特徴とする[23]または[ 36]に記載のプログラム。
- [38] 上記リッチな上記塩基配列情報は、上記7塩基からなる上記塩基配列情報が、上記アデニン、上記チミン、および、上記ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の上記塩基が少なくとも3塩基以上含まれる上記塩基配列情報であることを特徴とする[23]、[36]、[37]のいずれか一つに記載のプログラム。
  - [39] 上記予め定めた上記塩基数は、13~28であることを特徴とする[23]、[36]、[37]、[38]のいずれか一つに記載のプログラム。
- 15 〔40〕 上記部分塩基配列作成工程は、オーバーハング部位を含む上記部分塩 基配列情報を作成するオーバーハング部位含有塩基配列作成工程をさらに含むこ とを特徴とする〔23〕、〔36〕、〔37〕、〔38〕、〔39〕のいずれか 一つに記載のプログラム。
- [41] 上記規定配列情報の少なくとも一方の末端に上記オーバーハング部位
   を付加するオーバーハング部位付加工程を含むことを特徴とする[23]、[3
   6]、[37]、[38]、[39]のいずれか一つに記載のプログラム。
  - [42] 上記オーバーハング部位の塩基数は、2であることを特徴とする [40] または [41] に記載のプログラム。
- [43] 上記規定配列情報と同一または類似の上記塩基配列情報を他の上記塩 基配列情報から検索する同一類似塩基配列検索工程と、上記同一類似塩基配列検 索工程にて検索された上記同一または上記類似の上記塩基配列情報に基づいて、 上記規定配列情報が上記標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評 価する無関係遺伝子標的評価工程とを含むことを特徴とする[23]、[36]

、 [37]、 [38]、 [39]、 [40]、 [41]、 [42] のいずれか一 つに記載のプログラム。

- [44] 上記無関係遺伝子標的評価工程は、上記同一類似塩基配列検索工程にて検索された上記同一または上記類似の上記塩基配列情報のうち上記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子の上記塩基配列情報の総数、および、上記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子の上記塩基配列情報に付された同一類似の度合いを示す値に基づいて、上記同一類似の度合いを示す値の逆数の総和を算出する総和算出工程と、上記総和算出工程にて算出された上記総和に基づいて、上記規定配列情報が上記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子を標的にするか否かを評価する総和基準標的評価工程とをさらに含むことを特徴とする[43]に記載のプログラム。
  - [45] 上記[23]、[36]から[44]のいずれか一つに記載されたプログラムを記録したことを特徴とするコンピュータ読み取り可能な記録媒体。

10

15

20

25

- [46] 上記塩基配列処理装置において、上記部分塩基配列作成手段は、上記塩基配列情報の上記標的遺伝子のコード領域、または、転写領域に対応する部位から、上記予め定めた上記塩基数の上記部分塩基配列情報を作成する領域指定塩基配列作成手段をさらに備えたことを特徴とする[25]に記載の塩基配列処理システム。
- [47] 上記塩基配列処理装置において、上記部分塩基配列作成手段は、異なる生物に由来する複数の上記塩基配列情報の間で共通する、上記予め定めた上記塩基数の上記部分塩基配列情報を作成する共通塩基配列作成手段をさらに備えたことを特徴とする[25]または[46]に記載の塩基配列処理システム。
- [48] 上記塩基配列処理装置において、上記リッチな上記塩基配列情報は、上記7塩基からなる上記塩基配列情報が、上記アデニン、上記チミン、および、上記ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の上記塩基が少なくとも3塩基以上含まれる上記塩基配列情報であることを特徴とする〔25〕、〔46〕、〔47〕のいずれか一つに記載の塩基配列処理システム。
- [49] 上記塩基配列処理装置において、上記予め定めた上記塩基数は、13~28であることを特徴とする[25]、[46]、[47]、[48]のいず

れか一つに記載の塩基配列処理システム。

- [50] 上記塩基配列処理装置において、上記部分塩基配列作成手段は、オーバーハング部位を含む上記部分塩基配列情報を作成するオーバーハング部位含有塩基配列作成手段をさらに備えたことを特徴とする[25]、[46]、[47]、[48]、[49]のいずれか一つに記載の塩基配列処理システム。
- [51] 上記塩基配列処理装置は、上記規定配列情報の少なくとも一方の末端に上記オーバーハング部位を付加するオーバーハング部位付加手段を備えたことを特徴とする[25]、[46]、[47]、[48]、[49]のいずれか一つに記載の塩基配列処理システム。
- 10 [52] 上記塩基配列処理装置において、上記オーバーハング部位の塩基数は、2であることを特徴とする[50]または[51]に記載の塩基配列処理システム。
  - [53] 上記塩基配列処理装置は、上記規定配列情報と同一または類似の上記塩基配列情報を他の上記塩基配列情報から検索する同一類似塩基配列検索手段と、上記同一類似塩基配列検索手段にて検索された上記同一または上記類似の上記塩基配列情報に基づいて、上記規定配列情報が上記標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評価する無関係遺伝子標的評価手段とを備えたことを特徴とする[25]、[46]、[47]、[48]、[49]、[50]、[51]、[52]のいずれか一つに記載の塩基配列処理システム。
- 20 [54] 上記塩基配列処理装置において、上記無関係遺伝子標的評価手段は、上記同一類似塩基配列検索手段にて検索された上記同一または上記類似の上記塩基配列情報のうち上記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子の上記塩基配列情報の総数、および、上記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子の上記塩基配列情報に付された同一類似の度合いを示す値に基づいて、上記同一類似の度合いを示す値の逆数の総和を算出する総和算出手段と、上記総和算出手段にて算出された上記総和に基づいて、上記規定配列情報が上記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子を標的にするか否かを評価する総和基準標的評価手段とをさらに備えたことを特徴とする[53]に記載の塩基配列処理システム。

14

#### 図面の簡単な説明

10

15

20

25

第1図は、ヒトとマウスとで共通配列である siRNAの設計を示す図であり 、第2図は、RNAi効果を示すsiRNAの規則性を示す図であり、第3図は 、ヒトFBP1およびマウスFbp1の塩基配列中の規定配列を有する共通部位 (太字部分)を示す図であり、第4図は、ヒトFBP1およびマウスFbp1に 共通の規定配列を列挙した図であり、第5図は、ヒトFBP1およびマウスFb p 1 に共通の規定配列にスコアを付した図であり、第6図は、標的以外の遺伝子 をノックアウトしないよう、規定配列のうちの1つをBLAST検索した結果を 示す図であり、第7図は、標的以外の遺伝子をノックアウトしないよう、規定配 列のうちの1つをBLAST検索した結果を示す図であり、第8図は、プログラ ムの出力結果を示す図であり、第9図は、RNA断片の設計(a~p)を示す図 であり、第10図は、a~pのsiRNAがRNAi効果を示すか試験した結果 を示す図であり、「B」はショウジョウバエ培養細胞における結果を、「C」は ヒト培養細胞における結果を示す図であり、第11図は、a~pのsiRNAの 配列の特徴を分析した結果を示す図であり、第12図は、本発明の基本原理を示 す原理構成図であり、第13図は、本発明が適用される本システムの塩基配列処 理装置100の構成の一例を示すブロック図であり、第14図は、標的遺伝子塩 基配列ファイル106aに格納される情報の一例を示す図であり、第15図は、 部分塩基配列ファイル106bに格納される情報の一例を示す図であり、第16 図は、判定結果ファイル106cに格納される情報の一例を示す図であり、第1 7図は、規定配列ファイル106 d に格納される情報の一例を示す図であり、第 18図は、参照配列データベース106eに格納される情報の一例を示す図であ り、第19図は、同一類似度ファイル106 f に格納される情報の一例を示す図 であり、第20図は、評価結果ファイル106gに格納される情報の一例を示す 図であり、第21図は、本発明が適用される本システムの部分塩基配列作成部1 O 2 a の構成の一例を示すブロック図であり、第22図は、本発明が適用される 本システムの無関係遺伝子標的評価部102hの構成の一例を示すブロック図で

10

15

あり、第23図は、本実施形態における本システムのメイン処理の一例を示すフローチャートであり、第24図は、本実施形態における本システムの無関係遺伝子標的評価処理の一例を示すフローチャートであり、第25図は、標的発現ベクターpTRECの構造を示す図であり、第26図は、実施例2の2. (2)におけるプライマーの一方がイントロンを挟む形でデザインされていない場合のPCRの結果を示す図であり、第27図は、実施例2の2. (2)におけるプライマーの一方がイントロンを挟む形でデザインされている場合のPCRの結果を示す図であり、第27図は、実施例2の2. (2)におけるプライマーの一方がイントロンを挟む形でデザインされている場合のPCRの結果を示す図であり、第28図は、siRNA;siVIM35の配列および構造を示す図であり、第29図は、siRNA;siVIM35の配列および構造を示す図であり、第30図は、siRNA;siVIM312の配列および構造を示す図であり、第30図は、siRNA;siControlの配列および構造を示す図であり、第31図は、siVIM812お

siRNA; siControl の配列および構造を示す図であり、第31図は、siVIM812および siVIM35の RNAi 活性をアッセイした結果を示す図である。第32図は、siControl、siVIM812および siVIM35のビメンチンに対する RNAi 活性を示す図であり、第33図は、抗体染色の結果を示す図であり、第34図は、プログラムにより設計されたsiRNAのルシフェラーゼ遺伝子に対するRNAi活性の測定結果を示す図であり、第35図は、プログラムにより設計されたsiRNAのSARSウイルスが有する配列に対するRNAi活性の測定結果を示す図である

#### 発明を実施するための最良の形態

- 20 本発明の実施の形態を、以下の<1>から<7>順に従って説明する。
  - <1>RNA干渉の標的塩基配列検索方法
  - <2>RNA干渉を生じさせるポリヌクレオチドの塩基配列設計方法
  - <3>2本鎖ポリヌクレオチドの作製方法
  - <4>遺伝子の発現抑制方法
- 25 < 5 > s i R N A 配列設計プログラム
  - <6>siRNA配列設計ビジネスモデルシステム
  - <7>siRNA配列設計プログラムを実行する塩基配列処理装置等

15

20

25

ばウラシルが対応する。

<1>RNA干渉の標的塩基配列検索方法

本発明の検索方法は、標的とする遺伝子の塩基配列中から、RNA干渉の起因となる塩基配列を探し出す方法である。具体的には、本発明の検索方法では、RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列から、下記(a)から(d)の規則に従う配列部位を検索する。

- (a) 3<sup>1</sup> 末端の塩基が、アデニン、チミンまたはウラシルである。
- (b) 5 末端の塩基が、グアニンまたはシトシンである。
- (c) 3<sup>°</sup> 末端の7塩基の配列において、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチである。
- 10 (d) 塩基数が、細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせ得る数である。

「標的遺伝子」における「遺伝子」とは、遺伝情報をコードする媒体のこという。「遺伝子」はDNA、RNA、DNAおよびRNAの複合体など遺伝情報をコードする物質により構成されるが、遺伝情報としては物質そのものではなく塩基配列を電子データ化したものをコンピュータ上などで扱うことが可能である。

「標的遺伝子」は、1つのコード領域としてもよいし、複数のコード領域に渡り標的としてもよいし、また、配列が判明したすべてのポリヌクレオチドを標的としてもよい。特定の機能を有する遺伝子について検索したい場合には、その特定遺伝子のみを標的とすることにより、当該特定遺伝子に特異的にRNA干渉を生じさせる塩基配列を効率よく検索することができる。すなわち、RNA干渉はmRNAを干渉破壊する現象として知られており、特定のコード領域を選択することにより検索負荷を軽減できる。また、転写領域のひとまとまりを標的遺伝子として検索してもよい。なお、本明細書において塩基配列は特に断らない限りセンス鎖、すなわち、mRNAの配列を基準として示す。また、本明細書中では上記(a)から(d)の規則を満たす塩基配列のことを「規定配列」という。上記規則においては、塩基配列がDNAの配列であればチミンが、RNAの配列であれ

規則(c)は、3<sup>1</sup>末端近傍の配列にアデニン、チミン、およびウラシルからなる群より選ばれる塩基がリッチに含まれていることを規定しており、具体的に

15

20

25

検索を行う際の一指標として3<sup>2</sup> 末端部から7塩基の範囲内において、アデニン、チミン、およびウラシルから選ばれる塩基がリッチな配列であることを規定している。

規則(c)において、「リッチな配列」とは特定の塩基が現れる頻度が高いことを意味し、割合を概略的に示すと、規定配列における3、末端側の5~10塩基、好ましくは7塩基の配列中にアデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上が、少なくとも40%以上、より好ましくは50%以上含まれることを意味する。より具体的には、例えば約19塩基程度の規定配列の場合を例に挙げると、3、末端側の7塩基のうち好ましくは少なくとも3塩基以上、より好ましくは4塩基以上、特に好ましくは5塩基以上が、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上である。

規則(c)に該当するか否かを確認する手段は特に制限はなく、7塩基中の好ましくは3塩基以上、より好ましくは4塩基以上、特に好ましくは5塩基以上がアデニン、チミンまたはウラシルであることを確認できればよい。例えば、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上が、3,末端側の7塩基の配列中に3つ以上含まれることをリッチであると定義した場合を例として説明すると、3,末端の第1番目の塩基から逐次上記3種の塩基のいずれかであるか照合し、第7番目の塩基に至るまでに3つ現れた場合に、規則(c)に適合すると判断することができる。例えば、第3番目までに3つ現れれば、3つの塩基を調べれば足りる。すなわち、規則(c)について検索する場合、必ずしも3,末端側の7塩基についてすべて照合することは要しない。逆に第7番目までに3つ以上現れなければリッチではなく、規則(c)を満たさないと判断される。

二本鎖ポリヌクレオチドにおいてはアデニンとチミンまたはウラシルとが相補 的に水素結合することは周知である。また、グアニンとシトシンとの相補的な水 素結合(G-C水素結合)においては3つの水素結合部位が形成されるのに対し 、アデニンとチミンまたはウラシルとの相補的水素結合(A-(T/U)水素結

10

15

20

25

合)においては2つの水素結合部位からなり、一般的に言ってG-C水素結合に対し、A-(T/U)水素結合のほうが結合力は弱い。

規則(d)においては、検索する塩基配列の塩基数を規定している。検索する塩基配列の塩基数は、RNA干渉を生じさせ得る塩基数である。また、生物の種類などの条件により、塩基数があまりに大きすぎるsiRNAでは細胞毒性を生じてしまうことが知られている。塩基数の上限は、RNA干渉を生じさせようとする生物の種類などにより異なるが、siRNAを構成する一本鎖の塩基数はいずれの種にせよ30以下であることが好ましい。また、哺乳動物の塩基数にあっては、好ましくは24以下、より好ましくは22以下である。また、下限はRNA干渉を生じさせる限りにおいて特に制限されるものではないが、好ましくは15以上、より好ましくは18以上、さらに好ましくは20以上である。siRNAを構成する一本鎖としての塩基数は、21で検索することが特に好ましい。

なお、下記にても説明するが、siRNAには、規定配列の3、末端にオーバーハング部が設けられる。オーバーハング部は塩基数2であることが好適である。したがって、オーバーハング部を含めず、規定配列のみの塩基数の上限としては、好ましくは28以下、より好ましくは22以下、さらに好ましくは20以下であり、下限としては、好ましくは13以上、より好ましくは16以上、さらに好ましくは18以上である。規定配列の最も好ましい塩基数は19である。RNAiの標的塩基配列の検索は、オーバーハング部を含める場合および含めない場合のいずれで検索してもよい。

規定配列に従う塩基配列は、RNA干渉を生じさせる確率が極めて高い。したがって、本発明の検索方法により、RNA干渉を生じさせる配列を極めて高い確率で検索することが可能であり、RNA干渉を生じさせるポリヌクレオチドの設計を簡便化することができる。

また、他の好ましい例として、規定配列は7塩基以上グアニン(G)および/ またはシトシン(C)が連続した配列を含まない配列であることなどが挙げられ る。7塩基以上グアニンおよび/またはシトシンが連続するというのは、例えば 、グアニンまたはシトシンの一方のみが連続する場合と、グアニンおよびシトシ

20

25

ンとが混在する配列となっている場合の双方を含み、より具体的には、GGGGGGGG、CCCCCCのほか、GおよびCの混合配列であるGCGGCCCなども含まれる。

なお、規定配列の検索は、塩基数を定めた上で上記の(a)から(c)の規則などに従う部分を検索するようなプログラムを搭載するコンピュータを用いて効率的に検出可能である。より具体的な実施の形態は下記<5>s i RNA配列設計プログラム、および、<7>s i RNA配列設計プログラムを実行する塩基配列処理装置等の欄に示す。

<2>RNA干渉を生じさせるポリヌクレオチドの塩基配列設計方法

本発明の塩基配列設計方法は、上記の検索方法により検索された塩基配列に基づいてRNA干渉を生じさせるポリヌクレオチド(siRNA)の塩基配列を設計するものである。siRNAは主としてRNAからなるが、一部にDNAが含まれている混成ポリヌクレオチドも含まれる。本発明の塩基配列設計方法では、上記(a)から(d)の規則に従う塩基配列を標的遺伝子の塩基配列から検索し、検索された塩基配列と相同な塩基配列を設計する。また、他の好ましい設計例としては、規定配列は7塩基以上グアニン(G)および/またはシトシン(C)が連続した配列を含まない配列であることなどを考慮してもよい。(a)から(d)の規則および検索の手法などについては、上記本発明の検索方法について説明したとおりである。

「相同な配列」とは、同一の配列および当該RNA干渉を生じさせるという機能を失わない範囲で同一配列に対し欠失、置換、挿入などの変異を含む配列のことをいう。標的遺伝子の種類、配列などの条件にもよるが、許容される変異を相同性(ホモロジー)で例示すると、好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上、さらに好ましくは95%以上である。許容される変異の程度としての相同性を算出する場合、同一の検索アルゴリズム用いて算出された数値どうしを比較することが望ましい。検索アルゴリズムは特に限定されないが、局所的な配列の検索に適したものが好適であり、より具体的にはBLAST、ssearchなどを好適に用いることができる。

上記のように、検索された配列は若干の改変が許容されるが、設計される塩基配列の塩基数は、検索された配列と同一とすることが特に好ましい。塩基数を同一とした場合について改変の許容度を例示すると、設計される塩基配列の塩基が、好ましくは80%以上、より好ましくは90%以上、特に好ましくは95%以上検索された配列と一致することが好適である。例えば、塩基数19の塩基配列を設計する場合であれば、好ましくは16塩基以上、より好ましくは18塩基以上が、検索された塩基配列と一致することが好ましい。また、検索された塩基配列と相同な配列を設計する場合、検索された塩基配列の3°末端の塩基と設計される塩基配列の3°末端の塩基と設計される塩基配列の5°末端の塩基とが同一であることが望ましく、また、検索された塩基配列の5°末端の塩基とが同一であることが望ましい。

5

10

15

20

25

通常 s i RNA分子には、オーバーハング部が設けられる。オーバーハング部とは、2本鎖の s i RNA分子において、各鎖の 3'末端に設けられた、一本鎖の状態で突出した部分である。オーバーハング部は、生物の種類などにもよるが、塩基数は2が特に好適である。オーバーハング部の塩基配列は、基本的には任意であるが、検索元の標的遺伝子と同一の塩基配列、TT、あるいはUUなどが好適に用いられる場合がある。上記のように検索された塩基配列と相同な配列となるように設計された規定配列の 3'末端に、オーバーハング部を設けることにより、s i RNAを構成するセンス鎖が設計される。

また、最初から規定配列およびオーバーハング部を含めて検索を行い、設計することもできる。オーバーハング部の好ましい塩基数は2である。したがって、例えば、塩基数19の規定配列および塩基数2のオーバーハング部からなるsi RNAを構成する一本鎖の設計をする場合には、オーバーハング部を含めたsi RNAの塩基数としては塩基数21の配列を標的遺伝子から検索すればよく、また2本鎖の状態について検索する場合には、塩基数23の配列を検索してもよい

本発明の塩基配列設計方法では、上記のように所望の標的遺伝子から所定の配列を検索してくるが、RNA干渉を生じさせようとする対象は、標的遺伝子の由

来と必ずしも一致せずともよく、類縁種などに適用可能である。例えば、第1の種から単離された遺伝子を標的遺伝子とし、第1の種の類縁種である第2の種に用いるsiRNAを設計することもできる。さらに、例えば複数種の哺乳類から共通配列を検索し、この共通配列から上記規定配列を検索して設計することにより、哺乳類に幅広く適用可能なsiRNAの設計が可能である。複数の哺乳類に共通する配列は、他の哺乳類においても保存されている確率が高いと考えられるためである。

5

10

15

20

標的遺伝子と関係のない遺伝子についてまでRNA干渉を生じさせないようにするためには、設計した配列と同一または類似の配列が他の遺伝子に含まれていないか検索することが好ましい。設計した配列と同一または類似の配列の検索は、一般的なホモロジー検索を行うことができるソフトウエア等を用いて行えばよい。このような同一/類似配列を除外することにより、標的とする遺伝子のみに特異的にRNA干渉を生じさせる配列を設計することができる。

本発明の設計方法により、RNA干渉を生じさせるRNA分子を、高い確率でしかも容易に設計することができる。RNAの合成は、未だ労力、時間、費用を要するが、本発明の設計方法によりそれらを大幅に軽減することが可能である。
<3>2本鎖ポリヌクレオチドの作製方法

本発明の2本鎖ポリヌクレオチドの作製方法は、RNA干渉を生じさせる確率の高い2本鎖ポリヌクレオチドを作製する方法である。本発明の2本鎖ポリヌクレオチドは、ポリヌクレオチドの塩基配列が上記本発明の塩基配列設計方法に従って設計され、その配列設計に従うように2本鎖ポリヌクレオチドが合成される。配列の設計における好ましい形態は、上記塩基配列設計方法についての説明と同様である。

2本鎖ポリヌクレオチドはRNA干渉を生じさせる2本鎖ポリヌクレオチドを 6成するものであり、このような2本鎖ポリヌクレオチドとしてsiRNAが知 られている。なお、本発明の製造法により製造される2本鎖ポリヌクレオチドは RNAにより構成されることが好ましいが、一部にDNAを含む混成ポリヌクレ オチドであってもよい。本明細書では一部にDNAを含むものもsiRNAの概 WO 2004/048566

15

20

25

念に含める。また、本発明者らの研究によれば、siRNAは構造・機能的にアシンメトリー性(非対称性)を有する傾向が認められ、RNA干渉を生じさせるという目的からすると、センス鎖の5、末端側の半分、アンチセンス鎖の3、末端側の半分はRNAで構成されることが望ましい。

2本鎖ポリヌクレオチドは、一方の鎖が標的遺伝子の塩基配列中に含まれる、
(a)から(d)の規則に従う規定配列と相同な塩基配列の3、末端にオーバー
ハング部を設けて形成され、他方の鎖が、前記規定配列と相同な塩基配列と相補
的な配列の3、末端にオーバーハング部を設けて形成される。各鎖の塩基数はオーバーハング部を含め18~24であり、より好ましくは20~22、特に好ま
しくは21である。また、オーバーハング部の塩基数は2であることが好ましい
。全体の塩基数が21、そのうちオーバーハング部が塩基数2で構成されるsi
RNAは、哺乳類でも細胞毒性を生じさせずに高確率でRNA干渉を生じさせる
siRNAとして好適である。

RNAの合成は、例えば、化学合成によって合成してもよいし、また、通常のバイオテクノロジー等の手法に従って行うこともでき、所定の配列を有するDN A鎖を作製し、これを鋳型として転写酵素を用いて一本鎖RNAを合成し、一本鎖RNAを2本鎖化するなどの手法により合成することができる。

なお、分子生物学的な基本的手法については、BASIC METHODS IN MOLECULAR BIOLOGY (1986); Sambrookら、MOLECULAR CLONING: A LABORATORY MANU AL、第2版、Cold Spring Harbor Laboratory Press、Cold Spring Harbor、N. Y. (1989)、細胞工学ハンドブック、黒木登志夫ら編、羊土社(1992)、新遺伝子工学ハンドブック改訂第3版、村松ら編、羊土社(1999)など、多くの標準的な実験マニュアルがある。

上記本発明の製造方法により得られるポリヌクレオチドとして好ましい形態を示すと、RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列中から前記(a)から(d)の規則に従う塩基数13~28の配列部位を検索し、一方の鎖が、標的遺伝子の塩基配

列中に含まれる、前記(a)から(d)の規則に従う規定配列と相同な塩基配列の3<sup>2</sup> 末端にオーバーハング部を設けて形成され、他方の鎖が、前記規定配列と相同な塩基配列と相補的な配列の3<sup>2</sup> 末端にオーバーハング部を設けて形成され、各鎖の塩基数が $15\sim30$ であるように合成された、2本鎖ポリヌクレオチドが例示される。当該ポリヌクレオチドは、RNA干渉を生じさせる確率の高いポリヌクレオチドである。

また、siRNAを発現するような発現ベクターを調製することもできる。規 定配列を含む配列を発現するベクターを、発現が行われ得る無細胞系または細胞 系の条件下におくことで、発現ベクターを用いて所定のsiRNAを供給するこ とができる。

従来、siRNAの設計は、試験者の経験や勘に依存していたため、試行錯誤を繰り返すことが多かった。しかし、本発明の2本鎖ポリヌクレオチドの作製方法により、RNA干渉を生じさせる2本鎖ポリヌクレオチドを高い確率で製造することが可能である。上記本発明の検索方法、配列設計方法またはポリヌクレオチドの作製方法によれば、RNA干渉を利用した各種の試験や製造等に要する労力、時間、コストを大幅に削減することが可能である。すなわち、本発明は、遺伝子解析、創薬ターゲットの探索、創薬、遺伝子治療、生物種間の差の研究などのRNA干渉を利用する様々な試験、研究、開発、製造等を大幅に簡便にし、効率の向上を図ることができる。

20 < 4 >遺伝子の発現抑制方法

10

15

本発明の遺伝子発現抑制方法は、所定の塩基配列を検索する工程と、検索された塩基配列に基づいてsiRNAの塩基配列を設計して合成する工程と、得られたsiRNAを標的遺伝子を含む発現系に導入する工程とを含む。

所定の塩基配列を検索する工程は、上記RNA干渉の標的塩基配列検索方法に 25 従う。好ましい態様も上記の通りである。また、検索された塩基配列に基づいて siRNAの塩基配列を設計して合成する工程は、上記、RNA干渉を生じさせ るポリヌクレオチドの塩基配列設計方法、2本鎖ポリヌクレオチドの作製方法に 従って行うことができ、好ましい形態も同様である。

10

15

25

得られた2本鎖ポリヌクレオチドは、標的遺伝子の発現系に添加して標的遺伝子の発現を抑制する。標的遺伝子の発現系とは、標的遺伝子が発現している体系のことであり、より具体的には、少なくとも標的遺伝子のmRNAが形成される反応系を備える系である。標的遺伝子の発現系としては、In vitro、In vivoのいずれも含まれる。標的遺伝子の発現系として、培養細胞、培養組織、生体などのほか、無細胞系で用いることも可能である。発現抑制をしようとする標的遺伝子(抑制標的遺伝子)は必ずしも検索された配列の由来と一致する生物種のものに限らずともよいが、検索対象遺伝子と抑制対象遺伝子の由来が近縁であればあるほど、特異的かつ効果的に特定遺伝子の抑制を行うことができる。

標的遺伝子の発現系に導入するとは、標的遺伝子の発現反応系の中に取り込ませるということである。具体的に例を挙げると、標的遺伝子を有する培養細胞に 2本鎖ポリヌクレオチドをトランスフェクトし、細胞内に取り込ませる、規定配列およびオーバーハング部からなる塩基配列を有する発現ベクターを作製し、標的遺伝子を有する細胞内に導入するなどの手法が挙げられる。

本発明の遺伝子抑制方法によれば、効率よくRNA干渉を生じさせるポリヌクレオチドを得られるため、効率よく、また簡便に遺伝子を抑制することが可能である。

< 5 > s i R N A 配列設計プログラム

20 以下、siRNA配列設計プログラムの実施形態例を説明する。

(5-1)プログラムの概要

本プログラムは、ゲノムのシークエンスが進んでいない種、たとえばウマ、ブタなどに対してRNA干渉を行う際に、既に公開されているヒトとマウスのホモログの配列情報をもとに、目的の種で使用可能なsiRNAの配列を計算するものである。本プログラムでsiRNAを設計すれば、標的遺伝子をシークエンスすることなく迅速にRNA干渉を行うことができる。siRNAの設計(計算)にあたっては、GまたはC配分の規則(上記(a)~(d)で示される規則)を考慮してRNAi活性を有する確率が高い配列を選ぶとともに、標的遺伝子とは

15

20

25

無関係の遺伝子に対してRNA干渉が起こらないようホモロジーサーチによるチェックを行っている。なお、本明細書において「GまたはC」を「G/C」と、「AまたはT」を「A/T」とそれぞれ表記する場合がある。また、「A/T(U)」とは、デオキシリボ核酸による配列の場合T(チミン)であり、リボ核酸による配列の場合U(ウラシル)であることを示す。

#### (5-2) s i RNA設計の方針

ヒトの遺伝子Xおよび、そのホモログであるマウスの遺伝子Xの配列が既知であるとする。本プログラムはそれらの配列を読み込み、コード領域(CDS)部分から23塩基以上の完全に共通な配列を探し出す。この共通部分からsiRN Aを設計すれば、そのsiRNAはヒトとマウスの遺伝子Xをともに標的とすることができる(第1図)。

ヒトとマウスとで完全に共通な部分は、他の哺乳類でも保存されている確率が高いと考えられるので、上記のsiRNAはヒトとマウスの遺伝子Xのみならず、他の哺乳類の遺伝子Xに対しても機能することが期待される。つまり、標的遺伝子の配列が未知の動物種であっても、対応するヒトとマウスのホモログについて配列情報が既知であれば、本プログラムを用いてsiRNAを設計することができる。

なお、哺乳類においては、実際に機能するsiRNAは配列に規則性があることが判っている(第2図)。本プログラムでは、その規則に適合した配列のみを選ぶようにした。第2図は、RNAi効果を示すsiRNAの配列の規則性(siRNAのG/C配分の規則)を示す図である。第2図において、21塩基の長さをもつ2本のRNA鎖が、それぞれ3'側に2塩基のオーバーハングを持つように5'側の19塩基どうしで塩基対を形成しているようなsiRNAで、塩基対を形成している19塩基のうちコーディング側の配列の、1)3'末端がA/Uであること、2)5'末端がG/Cであること、3)3'側の7文字は、A/Uの割合が高いこと、が求められる。特に、1)および2)の条件は重要である

(5-3) プログラムの構造

本プログラムは3つの部分から構成されている。すなわち、(5-3-1) ヒトとマウスとで共通部位の配列(部分配列)を検索する部分、(5-3-2) G/C配分の規則に基づいて配列にスコアをつける部分、(5-3-3) 無関係の遺伝子を標的にしないようホモロジーサーチによりチェックする部分、である。

5 (5-3-1) 共通配列を検索する部分

複数の塩基配列ファイル(f i 1 e 1, f i 1 e 2, f i 1 e 3, . . . )を読み込み、全ファイルに共通に出現する 2 3 文字の配列をすべて見いだす。 (計算例)

file1としてヒトの遺伝子FBP1 (NM\_000507:Homo s apiens fructose-1,6-bisphosphatase 1)、file2としてマウスの遺伝子Fbp1 (NM\_019395:Mus musculus fructose bisphosphatase 1)の配列をプログラムに入力した。その結果、両者の配列 (第3図) から両者に共通な23文字の配列 (ヒトFBP1とマウスFbp1に共通な配列) が15個見いだされた (第4図)。

(5-3-2) 配列にスコアをつける部分

前述のG/C配分の規則に適合した配列のみを選択するために、23文字の配列に対してスコアを付ける。

(方法)

20 23文字の配列に対して、以下のようにスコアを付ける。

スコア1: 先頭から21文字目がA/Uか。 [no=0, yes=1]

スコア2: 先頭から3文字目がG/Cか。 [no=0, yes=1]

スコア3: 先頭から15文字目から21文字目までの7文字のうち、A/Uの数。 [0-7]

25 総合スコア:スコア1~3の積。ただし積が3以下の場合は0とする。 (計算例)

第4図に示した15個の配列に対して計算を行った結果を、第5図に示す。第 5図は、ヒトFBP1とマウスFbp1に共通な配列にスコアを付した図である

。なお、第5図に示す配列の後には、スコア1、スコア2、スコア3、総合スコ アが順に記載されている。

(5-3-3) 無関係の遺伝子を標的にしないようチェックする部分

設計したsiRNAが、標的遺伝子とは無関係の遺伝子に対して機能しないよう、公開されているヒト・マウスの全mRNAに対してホモロジーサーチを行い、無関係の遺伝子がヒットする度合いを評価する。ホモロジーサーチには各種アルゴリズムが使用可能であるが、ここでは、BLASTを使用した例を示す。なお、BLASTを用いる場合は、検索配列が23塩基と短いことを考慮して、Word Sizeを十分に小さくすることが望ましい。

10 BLASTの結果、E valueが10.0以下のヒットのうち、標的遺伝子以外の全てのヒットについて、E valueの逆数の総和を求める(以下、この値をホモロジー・スコアと呼ぶ)。すなわち、ホモロジー・スコア(X)は、下記式により求められる。

$$X = \sum_{all\ hits} \frac{1}{E}$$

15 注意点: E valueが低いヒットほど、queryの23文字とホモロジーが高く、siRNAの標的とされる危険性が高い。また、ヒットの数が多いほど、より多くの無関係な遺伝子を標的にする確率が高い。この2点を考慮して、siRNAが標的遺伝子と無関係の遺伝子を標的にする危険性を、上の式を用いて評価している。

20 (計算例)

25

23文字の配列に対して、上記のホモロジーサーチを行った結果と、ホモロジー・スコアを示す(第6図、第7図)。なお、第6図には、ヒトFBP1とマウスFbp1に共通な配列「caccctgacccgcttcgtcatgg」をBLASTした結果が示されており、最初の2行は、マウスFbp1とヒトFBP1がヒットしたものである。ホモロジー・スコアは5.9で、ヒットが少な

実際には、上記の(5-3-1)、(5-3-2)、(5-3-3)の部分は一体として構成してもよく、第3図に示したヒトとマウスの配列を入力すると、第8図のような出力が直接得られる。ここで、第8図に示す配列の後には、スコア1、スコア2、スコア3、総合スコア、および、ホモロジー・スコアを10倍した値が順に記載されている。なお、処理時間短縮のため、総合スコアが0の配列はホモロジー・スコアを計算しないようにしてもよい。この結果から、siRNAとして「36 caccctgacccgcttcgtcatgg」の部分を使えばよいことがわかる。また、(5-3-1)、(5-3-2)、(5-3-3)の部分のうち1つの機能を単独で利用することもできる。

#### 15 (5-4) 実際の計算

ヒト・マウス間のホモログのうち約6400遺伝子のペアに対して、実際に本プログラムでsiRNAの設計をおこなった。その結果、約7割について、ヒトとマウスとに共通な配列で、かつ有効なsiRNAの配列規則性の規則を満たし、無関係な遺伝子を標的としないようなsiRNAが設計できた。

20 これらのsiRNAはヒトとマウスのみならず、多岐の哺乳類で効果的に標的 遺伝子を抑える効果があると期待され、家畜や愛玩動物などへの応用など産業的 価値が高いと考えられる。また本プログラムを用い、同種内の複数の遺伝子、たとえばeIF2C1とeIF2C2を同時に標的とするsiRNAを設計することも可能であり、本プログラムが提供するsiRNA設計の手法は、応用範囲が 広くきわめて強力なものといえる。さらに、ヒトとマウスの共通な部分の配列を 用いてPCRプライマーを設計すれば、多岐の哺乳類で目的の遺伝子を増幅できる、といった利用法もある。

PCT/JP2003/014893

20

なお、siRNA配列設計プログラムを実行する装置の実施の形態は、下記7>siRNA配列設計プログラムを実行する塩基配列処理装置等の欄に詳細に示す。

<6>siRNA配列設計ビジネスモデルシステム

- 5 本発明のsiRNA配列設計ビジネスモデルシステムは、siRNA配列設計プログラムを適用するにあたり、ゲノムデータベース、ESTデータベース、進化系統樹データベースを本プログラムのロジックに添って単独で或いは組み合わせて参照し、遺伝子配列情報のavailable状態に応じた効果的なsiRNAを顧客へ提案するというシステムである。available状態とは、情報が利用可能な状態であることをいう。
  - (1) ゲノム情報がavailableだがORFの特定が困難なものについては、EST情報、等を基にエクソン想定部位に対して効果的なsiRNA候補を抽出し、スプライシングバリアントを考慮したsiRNA配列とその評価結果を表示する。
- 15 (2) 遺伝子配列、遺伝子名が明らかなものは、遺伝子配列または遺伝子名を入力後、効果的なsiRNA候補を抽出し、siRNA配列とその評価結果を表示する。
  - (3) ゲノム情報がavailableでないものについては、同種の遺伝子機能を保存している類縁関係(同属、乃至は起源を同じとする)にある生物種の遺伝子配列、或いは進化系統樹的に挟まれた、ゲノム配列がavailableな2種類以上の生物種の遺伝子配列、を用いて効果的なsiRNA候補を抽出し、siRNA配列とその評価結果を表示する。
  - (4) 感染症の遺伝子機能解析、創薬ターゲット発掘には、微生物のゲノムデータベース・進化系統樹データベースへ更に微生物のアポトーシス誘導部位情報、
- 25 機能発現部位情報を組み合わせて網羅的な s i R N A 候補配列を求める手法が有効である。

<7>siRNA配列設計プログラムを実行する塩基配列処理装置等

以下、上述したsiRNA配列設計プログラムを実行する装置である、本発明にかかる塩基配列処理装置、塩基配列処理方法をコンピュータに実行させるプログラム、記録媒体、および、塩基配列処理システムの実施の形態を図面に基づいて詳細に説明する。なお、この実施の形態によりこの発明が限定されるものではない。

#### [本発明の概要]

5

10

15

20

25

以下、本発明の概要について説明し、その後、本発明の構成および処理等について詳細に説明する。第12図は、本発明の基本原理を示す原理構成図である。

本発明は、概略的に、以下の基本的特徴を有する。すなわち、本発明は、RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を取得して、塩基配列情報の予め定めた塩基数の配列部位である部分塩基配列情報を作成する(ステップS-1)。

ここで、ステップS-1において、塩基配列情報の標的遺伝子のコード領域、または、転写領域に対応する部位から、予め定めた塩基数の部分塩基配列情報を作成してもよい。また、異なる生物に由来する複数の塩基配列情報(例えば、ヒトの塩基配列情報およびマウスの塩基配列情報など)の間で共通する、予め定めた塩基数の部分塩基配列情報を作成してもよい。また、同じ生物種における類似する複数の塩基配列情報の間で共通する、予め定めた塩基数の共通な部分塩基配列情報を作成してもよい。また、異なる生物に由来する複数の塩基配列情報の標的遺伝子のコード領域、または、転写領域に対応する部位から、予め定めた塩基数の共通な部分塩基配列情報を作成してもよい。また、同じ生物種における類似する複数の塩基配列情報の標的遺伝子のコード領域、または、転写領域に対応する部位から、予め定めた塩基数の共通な部分塩基配列情報を作成してもよい。これにより、標的遺伝子に特異的にRNA干渉を生じさせる規定配列を効率よく選択することができ、計算負荷を軽減できる。

さらに、ステップS-1において、オーバーハング部位を含む部分塩基配列情報を作成してもよい。具体的には、例えば、オーバーハング部位が含まれていることを表すオーバーハング部位含有情報が付加された部分塩基配列情報を作成してもよい。すなわち、部分塩基配列情報とオーバーハング部位含有情報とを相互

に関連付けてもよい。これにより、最初から規定配列およびオーバーハング部位 を含めて選択を行い、設計することができるようになる。

なお、上述の予め定めた塩基数の上限は、オーバーハング部位を含まない場合は、好ましくは28以下、より好ましくは22以下、さらに好ましくは20以下であり、オーバーハング部位を含む場合は、好ましくは32以下、より好ましくは26以下、さらに好ましくは24以下である。また、予め定めた塩基数の下限は、オーバーハング部位を含まない場合は、好ましくは13以上、より好ましくは16以上、さらに好ましくは18以上であり、オーバーハング部位を含む場合は、好ましくは17以上、より好ましくは20以上、さらに好ましくは22以上である。そして、最も好ましい予め定めた塩基数は、オーバーハング部位を含まない場合は、19であり、オーバーハング部位を含む場合は、23である。これにより、哺乳類においても細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせる規定配列を効率よく選択することができる。

10

15

ついで、ステップS-1にて作成された部分塩基配列情報の3'末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであるか否かを判定する(ステップS-2)。なお、具体的には、例えば、3'末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであるときには「1」を、そうでないときには「0」を判定結果として出力してもよい。

ついで、ステップS-1にて作成された部分塩基配列情報の5、末端の塩基が グアニン、または、シトシンであるか否かを判定する(ステップS-3)。なお 、具体的には、例えば、5、末端の塩基がグアニン、または、シトシンであると きには「1」を、そうでないときには「0」を判定結果として出力してもよい。 ついで、ステップS-1にて作成された部分塩基配列情報の3、末端の7塩基 からなる塩基配列情報が、アデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より 選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチな塩基配列情報であるか否かを判定 する (ステップS-4)。なお、具体的には、例えば、部分塩基配列情報の3、末端の7塩基からなる塩基配列情報に含まれる、アデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基の数を判定結果として

出力してもよい。ステップS-4における判定の規則は、ステップS-1にて作成された部分塩基配列情報の3<sup>\*</sup>末端近傍の塩基配列情報がアデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチな塩基配列情報であることを規定しており、具体的に検索を行う際の一指標として3<sup>\*</sup>末端から7塩基の範囲内の塩基配列情報がアデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチな塩基配列情報であることを規定している。

5

10

20

25

ここで、ステップS-4において、「リッチな塩基配列情報」は、上述の<1 > RNA干渉の標的塩基配列検索方法に記述されている「リッチな配列」であり、具体的には、例えば、ステップS-1にて作成された部分塩基配列情報が19 塩基程度からなる場合、当該部分塩基配列情報の7塩基からなる塩基配列情報が、アデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基が少なくとも好ましくは3塩基以上、より好ましくは4塩基以上、特に好ましくは5塩基以上含まれる塩基配列情報である。

15 また、ステップS-2からステップS-4において、オーバーハング部位を含む部分塩基配列情報を判定する場合、部分塩基配列情報のオーバーハング部位を除いた配列部位を判定対象として判定する。

ついで、ステップS-2、ステップS-3、および、ステップS-4にて判定された結果に基づいて、ステップS-1にて作成された部分塩基配列情報から標的遺伝子に特異的にRNA干渉を生じさせる規定配列情報を選択する(ステップS-5)。

具体的には、例えば、ステップS-2にて3、末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであると判定され、ステップS-3にて5、末端の塩基がグアニン、または、シトシンであると判定され、かつ、ステップS-4にて部分塩基配列情報の3、末端の7塩基からなる塩基配列情報が、アデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチな塩基配列情報であると判定された部分塩基配列情報を規定配列情報として選択する。ここで、具体的には、例えば、ステップS-2、ステップS-3、および、ス

テップS-4にて出力される数値の積を算出し、当該積の値に基づいて、ステップS-1にて作成された部分塩基配列情報から規定配列情報を選択してもよい。

これにより、哺乳類などにおいて、RNA干渉を生じさせる確率が極めて高い 、つまりRNA干渉に有効なsiRNAの配列を効率よく、容易に作成すること ができる。

ここで、ステップS-5にて選択された規定配列情報の少なくとも一方の末端にオーバーハング部位を付加してもよい。なお、例えば、ターゲット側を検索する場合は、規定配列情報の両末端にオーバーハング部位を付加してもよい。これにより、RNA干渉を生じさせるポリヌクレオチドの設計を簡便化することができる。

10

15

20

25

なお、上述のオーバーハング部位の塩基数は、上述の<2>RNA干渉を生じさせるポリヌクレオチドの塩基配列設計方法に記述されている塩基数であり、具体的には、例えば、2が特に好適である。

また、ステップS-5にて選択された規定配列情報と同一または類似の塩基配列情報を、他の塩基配列情報(例えばNCBIのRefSeq(Reference Sequence project)などの公的データベースで公開されている塩基配列情報)から、例えばBLAST、FASTA、ssearchなどの既存のホモロジー検索手法を用いて検索し、検索された同一または類似の塩基配列情報に基づいて、規定配列情報が標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評価してもよい。

具体的には、例えば、ステップS-5にて選択された規定配列情報と同一または類似の塩基配列情報を、他の塩基配列情報(例えばNCBIのRefSeqなどの公的データベースで公開されている塩基配列情報)から、例えばBLAST、FASTA、ssearchなどの既存のホモロジー検索手法を用いて検索し、検索された同一または類似の塩基配列情報のうち標的遺伝子とは無関係の遺伝子の塩基配列情報の総数、および、標的遺伝子とは無関係の遺伝子の塩基配列情報に付された同一類似の度合いを示す値(例えばBLAST、FASTAおよびssearchの場合は、「Evalue」)に基づいて、同一類似の度合い

15

を示す値の逆数の総和を算出し、算出された総和に基づいて(例えば、算出された総和の大小などに基づいて)、規定配列情報が標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評価してもよい。

これにより、規定配列情報から、標的とする遺伝子のみに特異的にRNA干渉を生じさせる配列を選出することができる。

以上、本発明により選択された、標的遺伝子と関係のない遺伝子についてまで RNA干渉を生じさせない規定配列情報に基づいてRNAの合成を行えば、それ にかかる労力、時間、費用を従来に比べ大幅に軽減することができる。

### [システム構成]

10 まず、本システムの構成について説明する。第13図は、本発明が適用される 本システムの構成の一例を示すブロック図であり、該構成のうち本発明に関係す る部分のみを概念的に示している。

本システムは、概略的に、RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を処理する 塩基配列処理装置100と、配列情報や構造情報等に関する外部データベースや ホモロジー検索等の外部プログラム等を提供する外部システム200とを、ネットワーク300を介して通信可能に接続して構成されている。

第13図において、ネットワーク300は、塩基配列処理装置100と外部システム200とを相互に接続する機能を有し、例えば、インターネット等である

20 第13図において、外部システム200は、ネットワーク300を介して、塩 基配列処理装置100と相互に接続され、利用者に対して配列情報や構造情報等 に関する外部データベースやホモロジー検索やモチーフ検索等の外部プログラム を実行するウェブサイトを提供する機能を有する。

ここで、外部システム200は、WEBサーバやASPサーバ等として構成してもよく、そのハードウェア構成は、一般に市販されるワークステーション、パーソナルコンピュータ等の情報処理装置およびその付属装置により構成してもよい。また、外部システム200の各機能は、外部システム200のハードウェア

10

15

構成中のCPU、ディスク装置、メモリ装置、入力装置、出力装置、通信制御装置等およびそれらを制御するプログラム等により実現される。

第13図において塩基配列処理装置100は、概略的に、塩基配列処理装置100の全体を統括的に制御するCPU等の制御部102、通信回線等に接続されるルータ等の通信装置(図示せず)に接続される通信制御インターフェース部104、入力装置112や出力装置114に接続される入出力制御インターフェース部108、および、各種のデータベースやテーブルなどを格納する記憶部106を備えて構成されており、これら各部は任意の通信路を介して通信可能に接続されている。さらに、この塩基配列処理装置100は、ルータ等の通信装置および専用線等の有線または無線の通信回線を介して、ネットワーク300に通信可能に接続されている。

記憶部106に格納される各種のデータベースやテーブル(標的遺伝子塩基配列ファイル106a~標的遺伝子アノテーションデータベース106h)は、固定ディスク装置等のストレージ手段であり、各種処理に用いる各種のプログラムやテーブルやファイルやデータベースやウェブページ用ファイル等を格納する。

これら記憶部106の各構成要素のうち、標的遺伝子塩基配列ファイル106 aは、RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を格納する標的遺伝子塩基配列格 納手段である。第14図は、標的遺伝子塩基配列ファイル106aに格納される 情報の一例を示す図である。

20 標的遺伝子塩基配列ファイル106aに格納される情報は、第14図に示すように、RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を一意に識別する塩基配列識別情報(例えば、第14図の「NM\_000507」)と、塩基配列情報(例えば、第14図の「ATGGCTGA・・・AGTGA」)とを相互に関連付けて構成されている。

25 また、部分塩基配列ファイル106bは、RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報の予め定めた塩基数の配列部位である部分塩基配列情報を格納する部分塩基配列格納手段である。第15図は、部分塩基配列ファイル106bに格納される情報の一例を示す図である。

10

15

20

25

部分塩基配列ファイル106bに格納される情報は、第15図に示すように、部分塩基配列情報を一意に識別する部分塩基配列識別情報(例えば、第15図の「NM\_000507:36」)と、部分塩基配列情報(例えば、第15図の「caccct・・・tcatgg」)と、オーバーハング部位が含まれていることを表すオーバーハング部位含有情報(例えば、第15図の「含有」)とを相互に関連付けて構成されている。

また、判定結果ファイル106 cは、後述する3、末端塩基判定部102b、5、末端塩基判定部102c、および、特定塩基含有判定部102dにて判定された結果を格納する判定結果手段である。第16図は、判定結果ファイル106 c に格納される情報の一例を示す図である。

判定結果ファイル106cに格納される情報は、第16図に示すように、部分塩基配列識別情報(例えば、第16図の「NM\_000507:36」)と、3,末端塩基判定部102bにて判定された結果である3,末端塩基判定結果(例えば、第16図の「1」)と、5,末端塩基判定部102cにて判定された結果である5,末端塩基判定結果(例えば、第16図の「1」)と、特定塩基含有判定部102dにて判定された結果である特定塩基含有判定結果(例えば、第16図の「4」)と、3,末端塩基判定部102b、5,末端塩基判定部102c、および、特定塩基含有判定部102dにて判定された結果を総合した結果である総合判定結果(例えば、第16図の「4」)とを相互に関連付けて構成されている。

なお、第16図において、3'末端塩基判定結果および5'末端塩基判定結果は、3'末端塩基判定部102cのそれぞれにて「含む」と判定された場合「1」を設定し、「含まない」と判定された場合「0」を設定した場合の一例である。また、第16図において、特定塩基含有判定結果は、部分塩基配列情報の3'末端の7塩基からなる塩基配列情報に含まれる、アデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基の数を設定した場合の一例である。さらに、第16図において、総合判定結果は、3'末端塩基判定結果、5'末端塩基判定結果、および、特定塩基含

10

15

20

有判定結果の積を設定した場合の一例である。なお、具体的には、例えば、当該 積が3以下の場合は、「0」を設定してもよい。

また、規定配列ファイル106dは、標的遺伝子に特異的にRNA干渉を生じさせる部分塩基配列情報である規定配列情報を格納する規定配列格納手段である。第17図は、規定配列ファイル106dに格納される情報の一例を示す図である。

規定配列ファイル106dに格納される情報は、第17図に示すように、部分塩基配列識別情報(例えば、第17図の「NM\_000507:36」)と、標的遺伝子に特異的にRNA干渉を生じさせる部分塩基配列情報である規定配列情報(例えば、第17図の「cacct・・・tcatgg」)とを相互に関連付けて構成されている。

また、参照配列データベース106eは、後述する同一類似塩基配列検索部102gにて規定配列情報と同一または類似の塩基配列情報を検索するために参照する塩基配列情報である参照塩基配列情報を格納するデータベースである。なお、参照配列データベース106eは、インターネットを経由してアクセスする外部の塩基配列情報データベースであってもよく、また、これらのデータベースをコピーしたり、オリジナルの配列情報を格納したり、さらに独自のアノテーション情報等を付加したりして作成したインハウスデータベースであってもよい。第18図は、参照配列データベース106eに格納される情報の一例を示す図である。

参照配列データベース106eに格納される情報は、第18図に示すように、参照配列識別情報(例えば、第18図の「 $ref|NM_015820.1|$ 」)と、参照塩基配列情報(例えば、第18図の「caccct・・・gcatgg」)とを相互に関連付けて構成されている。

25 また、同一類似度ファイル106fは、後述する同一類似塩基配列検索部102gにて検索された同一または類似の塩基配列情報に付された同一類似の度合いを示す値である同一類似度を格納する同一類似度格納手段である。第19図は、同一類似度ファイル106fに格納される情報の一例を示す図である。

20

PCT/JP2003/014893

同一類似度ファイル106fに格納される情報は、第19図に示すように、部分塩基配列識別情報(例えば、第19図の「NM\_000507:36」)と、参照配列識別情報(例えば、第19図の「ref|NM\_015820.1|」および「ref|NM\_003837.1|」)と、同一類似度(例えば、第19図の「0.52」)とを相互に関連付けて構成されている。

また、評価結果ファイル106gは、後述する無関係遺伝子標的評価部102 hにて標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評価した結果を格納する評価結果格納手段である。第20図は、評価結果ファイル106gに格納される情報の一例を示す図である。

10 評価結果ファイル106gに格納される情報は、第20図に示すように、部分塩基配列識別情報(例えば、第20図の「NM\_000507:36」および「NM\_000507:441」)と、後述する総和算出部102mにて算出された総和(例えば、第20図の「5.9」および「170.8」)と、評価結果(例えば、第20図の「非標的」および「標的」)とを相互に関連付けて構成されている。なお、第20図において、「非標的」は、規定配列情報が標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にしないことを意味し、また、「標的」は、規定配列情報が標的遺伝子とは無関係の遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にすることを意味する。

また、標的遺伝子アノテーションデータベース106hは、標的遺伝子に関するアノテーション情報を格納する標的遺伝子アノテーション格納手段である。なお、標的遺伝子アノテーションデータベース106hは、インターネットを経由してアクセスする、遺伝子に関するアノテーション情報を格納する外部のアノテーションデータベースであってもよく、また、これらのデータベースをコピーしたり、オリジナルの配列情報を格納したり、さらに独自のアノテーション情報等を付加したりして作成したインハウスデータベースであってもよい。

25 標的遺伝子アノテーションデータベース106hに格納される情報は、標的遺伝子を識別する標的遺伝子識別情報(例えば標的遺伝子の遺伝子名、アクセッション(Accession)番号など(例えば、第3図の最上部に記載の「NM \_\_000507」、「FBP1」))と標的遺伝子に関する簡略的な情報(例え

ば第3図の最上部に記載の「Homo sapiens fructose-1, 6-bisphosphatase 1」)とを相互に関連付けて構成されている。

また、第13図において、通信制御インターフェース部104は、塩基配列処理装置100とネットワーク300 (またはルータ等の通信装置) との間における通信制御を行う。すなわち、通信制御インターフェース部104は、他の端末と通信回線を介してデータを通信する機能を有する。

5

10

15

20

25

また、第13図において、入出力制御インターフェース部108は、入力装置112や出力装置114の制御を行う。ここで、出力装置114としては、モニタ(家庭用テレビを含む)の他、スピーカを用いることができる(なお、以下においては出力装置114をモニタとして記載する場合がある)。また、入力装置112としては、キーボード、マウス、および、マイク等を用いることができる。また、モニタも、マウスと協働してポインティングデバイス機能を実現する。

また、第13図において、制御部102は、OS(Operating System)等の制御プログラム、各種の処理手順等を規定したプログラム、および所要データを格納するための内部メモリを有し、これらのプログラム等により、種々の処理を実行するための情報処理を行う。制御部102は、機能概念的に、部分塩基配列作成部102a、3′末端塩基判定部102b、5′末端塩基判定部102c、特定塩基含有判定部102d、規定配列選択部102e、オーバーハング部位付加部102f、同一類似塩基配列検索部102g、および、無関係遺伝子標的評価部102hを備えて構成されている。

このうち、部分塩基配列作成部102 a は、RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を取得して、塩基配列情報の予め定めた塩基数の配列部位である部分塩基配列情報を作成する部分塩基配列作成手段である。ここで、部分塩基配列作成部102 a は、第21図に示すように、領域指定塩基配列作成部102 i、共通塩基配列作成部102 j、および、オーバーハング部位含有塩基配列作成部102 kをさらに含んで構成される。

25

第21図は、本発明が適用される本システムの部分塩基配列作成部102aの 構成の一例を示すブロック図であり、該構成のうち本発明に関係する部分のみを 概念的に示している。

第21図において、領域指定塩基配列作成部102iは、塩基配列情報の標的 遺伝子のコード領域、または、転写領域に対応する部位から、予め定めた塩基数 の部分塩基配列情報を作成する領域指定塩基配列作成手段である。

また、共通塩基配列作成部102jは、異なる生物に由来する複数の塩基配列情報の間で共通する、予め定めた塩基数の部分塩基配列情報を作成する共通塩基配列作成手段である。

10 また、オーバーハング部位含有塩基配列作成部102kは、オーバーハング部位を含む部分塩基配列情報を作成するオーバーハング部位含有塩基配列作成手段である。

再び第13図に戻り、3、末端塩基判定部102bは、部分塩基配列情報の3、末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであるか否かを判定する3、末端塩基判定手段である。

また、5 末端塩基判定部 102c は、部分塩基配列情報の5 末端の塩基がグアニン、または、シトシンであるか否かを判定する5 7 末端塩基判定手段である。

また、特定塩基含有判定部102dは、部分塩基配列情報の3°末端の7塩基20 からなる塩基配列情報が、アデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチな塩基配列情報であるか否かを判定する特定塩基含有判定手段である。

また、規定配列選択部102eは、3、末端塩基判定部102b、5、末端塩基判定部102c、および、特定塩基含有判定部102cにて判定された結果に基づいて、部分塩基配列情報から標的遺伝子に特異的にRNA干渉を生じさせる規定配列情報を選択する規定配列選択手段である。

また、オーバーハング部位付加部102 f は、規定配列情報の少なくとも一方の末端にオーバーハング部位を付加するオーバーハング部位付加手段である。

15

また、同一類似塩基配列検索部102gは、規定配列情報と同一または類似の 塩基配列情報を他の塩基配列情報から検索する同一類似塩基配列検索手段である

また、無関係遺伝子標的評価部102hは、同一または類似の塩基配列情報に基づいて、規定配列情報が標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評価する無関係遺伝子標的評価手段である。ここで、無関係遺伝子標的評価部102hは、第22図に示すように、総和算出部102m、および、総和基準評価部102mをさらに含んで構成される。

第22図は、本発明が適用される本システムの無関係遺伝子標的評価部102 hの構成の一例を示すブロック図であり、該構成のうち本発明に関係する部分の みを概念的に示している。

第22図において、総和算出部102mは、同一または類似の塩基配列情報のうち標的遺伝子とは無関係の遺伝子の塩基配列情報の総数、および、標的遺伝子とは無関係の遺伝子の塩基配列情報に付された同一類似の度合いを示す値(同一類似度)に基づいて、同一類似の度合いを示す値の逆数の総和を算出する総和算出手段である。

また、総和基準評価部102nは、総和算出部102mにて算出された総和に基づいて、規定配列情報が標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評価する総和基準標的評価手段である。

20 なお、これら各部によって行なわれる処理の詳細については、後述する。 [システムの処理]

次に、このように構成された本実施の形態における本システムの処理の一例について、以下に第23図、および、第24図を参照して詳細に説明する。

### [メイン処理]

25 まず、メイン処理の詳細について第23図等を参照して説明する。第23図は 、本実施形態における本システムのメイン処理の一例を示すフローチャートであ る。

10

15

20

25

まず、塩基配列処理装置100は、部分塩基配列作成部102aにて行われる部分塩基配列作成処理により、RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を取得して標的遺伝子塩基配列ファイル106aの所定の記憶領域に格納し、塩基配列情報の予め定めた塩基数の配列部位である部分塩基配列情報を作成し、作成された部分塩基配列情報を部分塩基配列ファイル106bの所定の記憶領域に格納する(ステップSA-1)。

ここで、ステップSA-1において、部分塩基配列作成部102aは、領域指定塩基配列作成部102iの処理により、塩基配列情報の標的遺伝子のコード領域、または、転写領域に対応する部位から、予め定めた塩基数の部分塩基配列情報を作成し、作成された部分塩基配列情報を部分塩基配列ファイル106bの所定の記憶領域に格納してもよい。

また、ステップSA-1において、部分塩基配列作成部102aは、共通塩基配列作成部102jの処理により、異なる生物に由来する複数の塩基配列情報(例えば、ヒトの塩基配列情報およびマウスの塩基配列情報など)の間で共通する、予め定めた塩基数の部分塩基配列情報を作成し、作成された部分塩基配列情報を部分塩基配列ファイル106bの所定の記憶領域に格納してもよい。なお、同じ生物種における類似する複数の塩基配列情報の間で共通する、予め定めた塩基数の共通な部分塩基配列情報を作成してもよい。

また、ステップSA-1において、部分塩基配列作成部102aは、領域指定塩基配列作成部102i、および、共通塩基配列作成部102jの処理により、異なる生物に由来する複数の塩基配列情報の標的遺伝子のコード領域、または、転写領域に対応する部位から、予め定めた塩基数の共通な部分塩基配列情報を作成し、作成された部分塩基配列情報を部分塩基配列ファイル106bの所定の記憶領域に格納してもよい。なお、同じ生物種における類似する複数の塩基配列情報の標的遺伝子のコード領域、または、転写領域に対応する部位から、予め定めた塩基数の共通な部分塩基配列情報を作成してもよい。

さらに、ステップSA-1において、部分塩基配列作成部102aは、オーバーハング部位含有塩基配列作成部102kの処理により、オーバーハング部位を

10

15

20

含む部分塩基配列情報を作成してもよい。具体的には、例えば、部分塩基配列作成部102 a は、オーバーハング部位含有塩基配列作成部102 k の処理により、オーバーハング部位が含まれていることを表すオーバーハング部位含有情報が付加された部分塩基配列情報を作成し、作成された部分塩基配列情報とオーバーハング部位含有情報と相互に関連付けて部分塩基配列ファイル106 b の所定の記憶領域に格納してもよい。

なお、上述の予め定めた塩基数の上限は、オーバーハング部位を含まない場合は、好ましくは28以下、より好ましくは22以下、さらに好ましくは20以下であり、オーバーハング部位を含む場合は、好ましくは32以下、より好ましくは26以下、さらに好ましくは24以下である。また、予め定めた塩基数の下限は、オーバーハング部位を含まない場合は、好ましくは13以上、より好ましくは16以上、さらに好ましくは18以上であり、オーバーハング部位を含む場合は、好ましくは17以上、より好ましくは20以上、さらに好ましくは22以上である。そして、最も好ましい予め定めた塩基数は、オーバーハング部位を含まない場合は、19であり、オーバーハング部位を含む場合は、23である。

ついで、塩基配列処理装置100は、3、末端塩基判定部102bの処理により、ステップSA-1にて作成された部分塩基配列情報の3、末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであるか否かを判定し、判定した結果を判定結果ファイル106cの所定の記憶領域に格納する(ステップSA-2)。具体的には、例えば、塩基配列処理装置100は、3、末端塩基判定部102bの処理により、ステップSA-1にて作成された部分塩基配列情報の3、末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであるときには「1」を、そうでないときには「0」を判定結果ファイル106cの所定の記憶領域に格納してもよい。

ついで、塩基配列処理装置100は、5,末端塩基判定部102cの処理により、ステップSA-1にて作成された部分塩基配列情報の5,末端の塩基がグアニン、または、シトシンであるか否かを判定し、判定した結果を判定結果ファイル106cの所定の記憶領域に格納する(ステップSA-3)。具体的には、例えば、塩基配列処理装置100は、5,末端塩基判定部102cの処理により、

25

ステップSA-1にて作成された部分塩基配列情報の5,末端の塩基がグアニン、または、シトシンであるときには「1」を、そうでないときには「0」を判定結果ファイル106cの所定の記憶領域に格納してもよい。

ついで、塩基配列処理装置100は、特定塩基含有判定部102dの処理によ り、ステップSA-1にて作成された部分塩基配列情報の3、末端の7塩基から 5 なる塩基配列情報が、アデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より選ば れる1種または2種以上の塩基がリッチな塩基配列情報であるか否かを判定し、 判定した結果を判定結果ファイル106 cの所定の記憶領域に格納する (ステッ プSA-4)。具体的には、例えば、塩基配列処理装置100は、特定塩基含有 判定部102dの処理により、ステップSA-1にて作成された部分塩基配列情 10 報の3、末端の7塩基からなる塩基配列情報に含まれる、アデニン、チミン、お よび、ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基の数を判定結 果ファイル106cの所定の記憶領域に格納してもよい。ステップSA-4にお ける判定の規則は、ステップSA-1にて作成された部分塩基配列情報の3、末 端近傍の塩基配列情報がアデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より選 15 ばれる1種または2種以上の塩基がリッチな塩基配列情報であることを規定して おり、具体的に検索を行う際の一指標として3、末端から7塩基の範囲内の塩基 配列情報がアデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より選ばれる1種ま たは2種以上の塩基がリッチな塩基配列情報であることを規定している。

ここで、ステップSA-4において、「リッチな塩基配列情報」は、上述の<1>RNA干渉の標的塩基配列検索方法に記述されている「リッチな配列」であり、具体的には、例えば、ステップSA-1にて作成された部分塩基配列情報が19塩基程度からなる場合、当該部分塩基配列情報の3、末端の7塩基からなる塩基配列情報が、アデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基が少なくとも好ましくは3塩基以上、より好ましくは4塩基以上、特に好ましくは5塩基以上含まれる塩基配列情報である。

また、ステップSA-2からステップSA-4において、オーバーハング部位を含む部分塩基配列情報を判定する場合、部分塩基配列情報のオーバーハング部

10

15

20

25

位を除いた配列部位を判定対象として判定する。

ついで、塩基配列処理装置 100 は、規定配列選択部 102 e の処理により、ステップ SA-2、ステップ SA-3、および、ステップ SA-4 にて判定された結果に基づいて、ステップ SA-1 にて作成された部分塩基配列情報から標的遺伝子に特異的に RNA 干渉を生じさせる規定配列情報を選択し、規定配列ファイル 106 d の所定の記憶領域に格納する(ステップ SA-5)。

具体的には、例えば、塩基配列処理装置100は、規定配列選択部102eの 処理により、ステップSA-2にて3 \* 末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであると判定され、ステップSA-3にて5 \* 末端の塩基がグアニン、または、シトシンであると判定され、かつ、ステップSA-4にて部分塩基配列情報の3 \* 末端の7塩基からなる塩基配列情報が、アデニン、チミン、および、ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチな塩基配列情報であると判定された部分塩基配列情報を規定配列情報として選択し、規定配列ファイル106dの所定の記憶領域に格納する。ここで、具体的には、例えば、塩基配列処理装置100は、規定配列選択部102eの処理により、ステップSA-2、ステップSA-3、および、ステップSA-4にて出力される数値の積を算出し、当該積の値に基づいて、ステップSA-1にて作成された部分塩基配列情報から規定配列情報を選択してもよい。

ここで、塩基配列処理装置100は、オーバーハング部位付加部102fの処理により、ステップSA-5にて選択された規定配列情報の少なくとも一方の末端にオーバーハング部位を付加して、規定配列ファイル106dの所定の記憶領域に格納してもよい。具体的には、例えば、塩基配列処理装置100は、オーバーハング部位付加部102fの処理により、規定配列ファイル106dの規定配列情報の項に記憶されている規定配列情報を、少なくとも一方の末端にオーバーハング部位が付加された規定配列情報に書き換えてもよい。なお、例えば、ターゲット側を検索する場合は、規定配列情報の両末端にオーバーハング部位を付加してもよい。

なお、上述のオーバーハング部位の塩基数は、上述の<2>RNA干渉を生じ

WO 2004/048566

5

10

15

20

させるポリヌクレオチドの塩基配列設計方法に記述されている塩基数であり、具体的には、例えば、2が特に好適である。

また、塩基配列処理装置100は、同一類似塩基配列検索部102gの処理により、ステップSA-5にて選択された規定配列情報と同一または類似の塩基配列情報を、他の塩基配列情報(例えばNCBIのRefSegなどの公的データベースで公開されている塩基配列情報)から、例えばBLAST、FASTA、ssearchなどの既存のホモロジー検索手法を用いて検索し、無関係遺伝子標的評価部102hにて行われる無関係遺伝子標的評価処理により、検索された同一または類似の塩基配列情報に基づいて、規定配列情報が標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評価してもよい。

具体的には、例えば、塩基配列処理装置100は、同一類似塩基配列検索部102gの処理により、ステップSA-5にて選択された規定配列情報と同一または類似の塩基配列情報を、他の塩基配列情報(例えばNCBIのRefSegなどの公的データベースで公開されている塩基配列情報)から、例えばBLAST、FASTA、ssearchなどの既存のホモロジー検索手法を用いて検索し、無関係遺伝子標的評価部102hは、総和算出部102mの処理により、検索された同一または類似の塩基配列情報のうち標的遺伝子とは無関係の遺伝子の塩基配列情報の総数、および、標的遺伝子とは無関係の遺伝子の塩基配列情報に付された同一類似の度合いを示す値(例えばBLAST、FASTAおよびssearchの場合は、「E value」)に基づいて、同一類似の度合いを示す値の逆数の総和を算出し、無関係遺伝子標的評価部102hは、総和基準評価部102nの処理により、算出された総和に基づいて、規定配列情報が標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評価してもよい。

ここで、無関係遺伝子標的評価部 1 0 2 h にて行われる無関係遺伝子標的評価 25 処理の詳細について第 2 4 図を参照して説明する。

第24図は、本実施形態における本システムの無関係遺伝子標的評価処理の一例を示すフローチャートである。

まず、塩基配列処理装置100は、同一類似塩基配列検索部102gの処理に

10

15

より、ステップSA-5にて選択された規定配列情報と同一または類似の塩基配列情報を、他の塩基配列情報(例えばNCBIのRefSegなどの公的データベースで公開されている塩基配列情報)から、例えばBLAST、FASTA、ssearchなどの既存のホモロジー検索手法を用いて検索し、規定配列情報の識別情報(第19図における「部分塩基配列識別情報」)と、検索された同一または類似の塩基配列情報の識別情報(第19図における「参照配列識別情報」)と、検索された同一または類似の塩基配列情報に付された同一類似の度合いを示す値(例えばBLAST、FASTAおよびssearchの場合は、「Evalue」)(第19図における「同一類似度」)とを相互に関連付けて、同一類似度ファイル106fの所定の記憶領域に格納する。

ついで、無関係遺伝子標的評価部102hは、総和算出部102mの処理により、検索された同一または類似の塩基配列情報のうち標的遺伝子とは無関係の遺伝子の塩基配列情報の総数、および、標的遺伝子とは無関係の遺伝子の塩基配列情報に付された同一類似の度合いを示す値(例えばBLAST、FASTAおよびssearchの場合は、「E value」)に基づいて、同一類似の度合いを示す値の逆数の総和を算出し、規定配列情報の識別情報(第20図における「部分塩基配列識別情報」)と算出された総和(第20図における「総和」)とを相互に関連付けて、評価結果ファイル106gの所定の記憶領域に格納する(ステップSB-1)。

20 ついで、無関係遺伝子標的評価部102hは、総和基準評価部102nの処理により、ステップSB-1にて算出された総和に基づいて(例えば、ステップSB-1にて算出された総和の大小などに基づいて)、規定配列情報が標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評価し、評価結果(第20図における「非標的」および「標的」)を評価結果ファイル106gの所定の記憶領域に格25 納する(ステップSB-2)。

これにて、メイン処理が終了する。

#### [他の実施の形態]

さて、これまで本発明の実施の形態について説明したが、本発明は、上述した

15

実施の形態以外にも、請求の範囲に記載した技術的思想の範囲内において種々の 異なる実施の形態にて実施されてよいものである。

例えば、塩基配列処理装置100がスタンドアローンの形態で処理を行う場合 を一例に説明したが、塩基配列処理装置100とは別筐体で構成されるクライア ント端末からの要求に応じて処理を行い、その処理結果を当該クライアント端末 5 に返却するように構成してもよい。具体的には、例えば、クライアント端末はR NA干渉の標的遺伝子の名称(例えば遺伝子名、アクセッション番号など)また は標的遺伝子に係る塩基配列情報を塩基配列処理装置100に送信し、塩基配列 処理装置100は当該名称に対応する塩基配列情報またはクライアント端末より 送信された塩基配列情報に対して制御部102で行われる上述した各処理を行い 、標的遺伝子に特異的にRNA干渉を生じさせる規定配列情報を選択してクライ アント端末に送信してもよい。この場合、例えば、クエリーの遺伝子に対して公 共データベースから配列情報を取得してsiRNAを選択してもよく、また、例 えば、予め全遺伝子の s i R N A を計算して記憶しておき、クライアント端末か らの要求(遺伝子の名称またはアクセッション番号など)に対して即座に siR NAを選択し、選択したsiRNAをクライアント端末に返してもよい。

また、塩基配列処理装置100は、標的遺伝子とは無関係の遺伝子に対する規 定配列情報の特異性を確認してもよい。これにより、標的とする遺伝子のみに特 異的にRNA干渉を生じさせる規定配列情報を選出することができる。

20 また、クライアント端末と塩基配列処理装置100とで構成される本システム には、例えば、Webページの利用者から、siRNAのRNA干渉効果(例え ば、「効く」、「効かない」など)の結果をWeb上でフィードバックしてもら い、利用者からフィードバックされた実験例を塩基配列処理装置100に蓄積し 、上述したRNA干渉に有効なsiRNAの配列規則性を改善するためのインタ ーフェース機能を導入してもよい。 25

また、塩基配列処理装置100は、規定配列情報からsiRNAのセンス鎖の 塩基配列情報および当該センス鎖と相補的(complementary)なア ンチセンス鎖の塩基配列情報を計算してもよい。具体的には、例えば、塩基配列

10

20

処理装置 100 は、上述した各処理の結果、規定配列の両端に各 2 塩基のオーバーハング部を付加した 23 塩基の配列情報として「caccctgacccgcttcgtcatgg] を選択した場合、センス鎖の塩基配列情報「5'ーCCCCUGACCCGCUUCGUCAUGG-3'」およびアンチセンス鎖の塩基配列情報「5'ーAUGACGAAGCGGGUCAGGGUG-3'」を計算する。これにより、ポリヌクレオチドを発注する時にセンス鎖、アンチセンス鎖を手作業でまとめる必要がなくなり、利便性が高まる。

また、実施形態において説明した各処理のうち、自動的に行なわれるものとして説明した処理の全部または一部を手動的に行うこともでき、あるいは、手動的に行なわれるものとして説明した処理の全部または一部を公知の方法で自動的に行うこともできる。

この他、上記文書中や図面中で示した処理手順、制御手順、具体的名称、各種の登録データや検索条件等のパラメータを含む情報、画面例、データベース構成については、特記する場合を除いて任意に変更することができる。

15 また、塩基配列処理装置100に関して、図示の各構成要素は機能概念的なものであり、必ずしも物理的に図示の如く構成されていることを要しない。

例えば、塩基配列処理装置100の各部または各装置が備える処理機能、特に制御部102にて行なわれる各処理機能については、その全部または任意の一部を、CPU(Central Processing Unit)および当該CPUにて解釈実行されるプログラムにて実現することができ、あるいは、ワイヤードロジックによるハードウェアとして実現することも可能である。なお、プログラムは、後述する記録媒体に記録されており、必要に応じて塩基配列処理装置100に機械的に読み取られる。

すなわち、ROMまたはHDなどの記憶部106などには、OS (Opera ting System)と協働してCPUに命令を与え、各種処理を行うためのコンピュータプログラムが記録されている。このコンピュータプログラムは、RAM等にロードされることによって実行され、CPUと協働して制御部102を構成する。また、このコンピュータプログラムは、塩基配列処理装置100に

対して任意のネットワーク300を介して接続されたアプリケーションプログラムサーバに記録されてもよく、必要に応じてその全部または一部をダウンロードすることも可能である。

また、本発明にかかるプログラムを、コンピュータ読み取り可能な記録媒体に格納することもできる。ここで、この「記録媒体」とは、フレキシブルディスク、光磁気ディスク、ROM、EPROM、EEPROM、CD-ROM、MO、DVD、フラッシュディスク等の任意の「可搬用の物理媒体」や、各種コンピュータシステムに内蔵されるROM、RAM、HD等の任意の「固定用の物理媒体」、あるいは、LAN、WAN、インターネットに代表されるネットワークを介してプログラムを送信する場合の通信回線や搬送波のように、短期にプログラムを保持する「通信媒体」を含むものとする。

5

10

15

また、「プログラム」とは、任意の言語や記述方法にて記述されたデータ処理 方法であり、ソースコードやバイナリコード等の形式を問わない。なお、「プログラム」は必ずしも単一的に構成されるものに限られず、複数のモジュールやライブラリとして分散構成されるものや、OS(Operating System)に代表される別個のプログラムと協働してその機能を達成するものをも含む。なお、実施の形態に示した各装置において記録媒体を読み取るための具体的な構成、読み取り手順、あるいは、読み取り後のインストール手順等については、周知の構成や手順を用いることができる。

20 記憶部106に格納される各種のデータベース等(標的遺伝子塩基配列ファイル106a~標的遺伝子アノテーションデータベース106h)は、RAM、ROM等のメモリ装置、ハードディスク等の固定ディスク装置、フレキシブルディスク、光ディスク等のストレージ手段であり、各種処理やウェブサイト提供に用いる各種のプログラムやテーブルやファイルやデータベースやウェブページ用ファイル等を格納する。

また、塩基配列処理装置100は、既知のパーソナルコンピュータ、ワークス テーション等の情報処理端末等の情報処理装置にプリンタやモニタやイメージス キャナ等の周辺装置を接続し、該情報処理装置に本発明の方法を実現させるソフ

10

15

トウェア(プログラム、データ等を含む)を実装することにより実現してもよい

さらに、塩基配列処理装置100等の分散・統合の具体的形態は明細書および 図面に示すものに限られず、その全部または一部を、各種の負荷等に応じた任意 の単位で、機能的または物理的に分散・統合して構成することができる(例えば 、グリッド・コンピューティングなど)。例えば、各データベースを独立したデ ータベース装置として独立に構成してもよく、また、処理の一部をCGI(Co mmon Gateway Interface)を用いて実現してもよい。

また、ネットワーク300は、塩基配列処理装置100と外部システム200とを相互に接続する機能を有し、例えば、インターネットや、イントラネットや、LAN(有線/無線の双方を含む)や、VANや、パソコン通信網や、公衆電話網(アナログ/デジタルの双方を含む)や、専用回線網(アナログ/デジタルの双方を含む)や、CATV網や、IMT2000方式、GSM方式またはPDC/PDC-P方式等の携帯回線交換網/携帯パケット交換網や、無線呼出網や、Bluetooth等の局所無線網や、PHS網や、CS、BSまたはISDB等の衛星通信網等のうちいずれかを含んでもよい。すなわち、本システムは、有線・無線を問わず任意のネットワークを介して、各種データを送受信することができる。

### 20 実施例

以下、実施例を示し、本発明についてより具体的に説明するが、本発明は下記 実施例に限定されるものではない。

### [実施例1]

<1>RNAi効果を測定するための遺伝子、発現ベクター

siRNAによるRNAi効果を測定するための標的遺伝子としてはホタル (Photinus pyralis, P. pyralis)のluciferase (luc)遺伝子 (P. pyralis luc遺伝子: accession number: U47296)を用い、これを含む発現ベクターとし

てはpGL3-Controlベクター (Promega社製)を用いた。P. pyralis luc遺伝子断片はこのベクター中でSV40のプロモーターとポリAシグナルで挟まれた形になっている。また内部コントロール遺伝子はウミシイタケ(Renilla reniformis, R. reniformis)のluc遺伝子を用い、これを含む発現ベクターとしてpRL-TK(Promega社製)を用いた。

<2>21塩基2本鎖RNA (siRNA) の合成

21塩基センス鎖と21塩基アンチセンス鎖RNA(第9図にしめされている位置のもの;  $a \sim p$ )は、日立計測器サービス株式会社を通じてジェンセット株式会社に合成を委託した。

P. pyralis luc遺伝子の発現を阻害するために用いた2本鎖RNAは、センス鎖とアンチセンス鎖とを会合させることで作製した。会合は、センス鎖RNAとアンチセンス鎖RNAを、10mM TrisーHC1(pH7.5),20mM NaC1反応液中で90℃、3分間加熱し、37℃で1時間インキュベートし、その後室温になるまで放置することで行った。2本鎖ポリヌクレオチドの形成は、TBE緩衝液中での2%アガロースゲルでの電気泳動で検定するが、上記条件では殆どすべての1本鎖ポリヌクレオチドが2本鎖ポリヌクレオチドに会合していた。

#### <3>哺乳類細胞培養法

5

10

15

20 哺乳類培養細胞としては、ヒトのHeLa細胞とHEK293細胞、チャイニーズハムスターのCHO-KI細胞(RIKEN Cell bank)を用いた。培地はDulbecco's modified Eagle's medium(Gibco BRL社製)に非働化10%牛胎児血清(Mitsubishi Kasei社製)及び抗生物質としてpenicillin(Meii i社製)10units/ml、streptomycin(Meii i社製)50μg/mlを添加したものを用いた。37℃、5%CО₂存在下で培養した

<4>哺乳類培養細胞への標的遺伝子、内部コントロール遺伝子、siRNAの培養細胞へのトランスフェクション

哺乳類細胞は $0.2\sim0.3\times10^6$ cells/mlの濃度で24欠プレートにまき、1日後にCa-phosphate沈殿法(細胞工学ハンドブック、黒木登志夫ら編、羊土社(<math>1992))で $1.0\mu$ g pGL3-ControlDNA、0.5または $1.0\mu$ g pRL-TK DNA、0.5または $1.0\mu$ g pRL-TK DNA、0.5 は0.1、0.10、0.10、0.10、0.10 に 0.10 に 0.1

<5>ショウジョウバエ細胞培養法

ショウジョウバエ培養細胞としてはS 2細胞(S chneider, I.,

et al., J. Embryol. Exp. Morph., 27,
353-365 (1972))を用いた。培地はS chneider's Dr
osophila medium(Gibco BRL社製)に非働化10%牛
胎児血清(Mitsubishi Kasei社製)及び抗生物質としてpen
icillin(Meiji社製)10units/ml、streptomy

cin(Meiji社製)50μg/mlを添加したものを用いた。25℃、5%CO。存在下で培養した。

<6>ショウジョウバエ培養細胞への標的遺伝子、内部コントロール遺伝子、siRNAの培養細胞へのトランスフェクション

このS 2 細胞は1. 0×10<sup>6</sup> c e l l s/mlの濃度で24穴プレートにまき、1日後にCa-phosphate沈殿法(細胞工学ハンドブック、黒木登志夫ら編、羊土社(1992))で1. 0μg pGL-3 Control DNA、0. 1μg pRL-TK DNA、及び0. 01、0. 1、1、10、100nMの各siRNAを導入した。

<7>RNA i 効果の測定

siRNAをトランスフェクションした細胞は、トランスフェクション後20時間後に回収し、Dual-Luciferase Reporter Assay System (Promega社製)を用いて、2種類のルシフェラーゼ (P. pyralis luc及びR. reniformis luc)タ

ンパクの発現量(ルシフェラーゼ活性)を測定した。発光量の測定はLumat LB9507 luminometer (EG&G Berthold) を用いて行った。

### < 8 > 結果

10

15

20

25

5 ルシフェラーゼ活性を測定した結果を第10図に示す。また、ルシフェラーゼ 活性と各塩基配列との対応を検討した結果を第11図に示す。

第10図中、Bで示されるグラフはショウジョウバエでの結果であり、Cで示されるグラフはヒトでの結果を示す。第10図に示されるように、ショウジョウバエでは塩基数を21のRNAを作製することにより、殆どの配列においてルシフェラーゼ活性を抑制できた。他方、ヒトの場合については、単に塩基数を21としただけではルシフェラーゼ活性を抑制できる配列が得られにくいことが明らかとなった。

そこで、a~pのRNAの塩基配列の規則性を分析した。配列の分析は、第11図に示すように2本鎖RNAの5箇所について塩基配列を分析した。第11図の表中最上段のaのsiRNAについてみると、ルシフェラーゼ相対活性(RLA)は0.03、アンチセンス鎖について3、末端側から順に見ると、オーバーハング部(OH)の塩基配列がUC、続く7塩基(図11中3、一T)中のG/C含有量(グアニンまたはシトシンの含有量)は57%、さらに続く5塩基(第11図中M)のG/C含有量は20であり、さらに続く7塩基(第11図中5、一T)のG/C含有量は14%であり、5、末端はUであり、合計のG/C含有量は32%である。表中、RLAの値が低いほど、RLAの活性が低く、すなわ

この結果から、RNA干渉を生じさせるポリヌクレオチドの塩基配列は、3°末端がアデニンまたはウラシルであり5°末端がグアニンまたはシトシンである確率が極めて高いことが明らかになった。また、3°末端側の7塩基ついてはアデニンまたはウラシルが豊富な状態であることが明らかとなった。

### [実施例2]

1. 標的発現ベクターpTRECの構築

ちルシフェラーゼの発現が抑制されたことを示す。

下記のようにして標的発現ベクターを構築した。標的発現分子は、RNAiの標的となる配列(以下「標的配列」という場合がある)を有するRNAを発現させる分子である。

pCI-neo(GenBank AccessionNo.U47120、プロメガ社製)のCMVエン ハンサー/プロモーター下流に標的mRNA配列を構築した(第25図)。すな わち、コザック配列(Kozak)、ATG配列、標的となる23塩基対配列クローニングサイト(target)及び組み換えのための制限酵素(NheI、EcoRI、XhoI)認識配列を有する下記の2本鎖オリゴマーを合成した。2本鎖オリゴマーは配列表の配列番号1に示す配列とその相補的な配列とからな る。合成した2本鎖オリゴマーをpCI-neoのNheI、XbaIサイトに 挿入し、標的発現ベクターpTRECを構築した(第25図)。なお、イントロンは、pCI-neoに当初から組み込まれているβーグロビン由来のイントロン部位を用いた。

5'-gctagccaccatggaattcacgcgtctcgagtctaga-3' (配列番号1)

第25図に示すpTRECは、プロモーターおよびエンハンサー(pro/enh)、とPCRプライマーに対応する領域PAR(F)1およびPAR(R)1を備ええる。PAR(F)1にはイントロン(Intron)が挟み込まれており、発現ベクターそのものがPCRの鋳型とならないように設計されている。pTRECは、RNAの転写後、真核生物の培養細胞などのスプライシングが行われる環境下において、イントロン部位が除去され、PAR(F)1が連結される。pTRECから形成されたRNAはRT-PCRにより増幅できる。イントロンは、pCI-neoに当初から組み込まれているβーグロビン由来のイントロン部位を用いた。

pTRECには、コントロールとしてネオマイシン耐性遺伝子(neo)が組 み込まれており、ネオマイシン耐性遺伝子内の配列の一部に対応するPCRプラ イマーを作製し、ネオマイシン耐性遺伝子の一部についてRT-PCRを行うこ とにより、ネオマシン耐性遺伝子を内部標準コントロール(インターナルコント ロール)として用いることができる。PAR(F) 2およびPAR(R) 2は、 WO 2004/048566 PCT/JP2003/014893

ネオマイシン耐性遺伝子中のPCRプライマー対応領域を示す。なお、第25図の例には示していないが、PAR(F)2またはPAR(R)2の少なくとも一方にもイントロンを挟み込んでおくこともできる。

- 2. 標的mRNA検出用プライマーの効果
- 5 (1) 培養細胞へのトランスフェクション

24穴プレートの1穴あたりに $0.2\sim0.3\times10^6$  c e 11 s のHeLa 細胞をまき、1 日後に Lipofectamine 2000 (Invitrogen 社製)を用いて、マニュアルにしたがって $0.5\mu$  g の p TRECベクターをトランスフェクトした。

- (2) 細胞の回収およびmRNAの定量
- 10 トランスフェクションの1日後、細胞を回収し、Trizol(Invitrogen 社製)を用いて全RNAを抽出した。このRNA100ngを用いて、オリゴ (dT) をプライマーとし、SuperScript II RT(Invitrogen 社製)により逆転写してcDNA合成反応を行った。コントロールとして、逆転写酵素を加えないものを用意した。得られたcDNAの320分の1量をPCRテンプレートとし、SYBR GreenPCR Master Mix(Applied Biosystems 社製)を用いて、50μ1の反応系で定量的PCRを行い、標的mRNA (mRNA (T)と称する)および、内部コントロールとしてpTREC上のネオマイシン耐性遺伝子に由来するmRNA (mRNA (C)と称する)を定量した。定量的PCRにはリアルタイムモニタリング装置ABI PRIZM7000(Applied Biosystems 社製)を用い、mRNA (T)の定量にはプライマー対T(配列表配列番号2、3)、mRNA (C)の定量にはプライマー対C(配列表配列番号4、5)をそれぞれ使用した。

プライマー対T:

(配列番号2)

tgctcgaagcattaaccctcacta

aggcactgggcaggtgtc

(配列番号3)

25 プライマー対 C

atcaggatgatctggacgaag

(配列番号4)

ctcttcagcaatatcacgggt

(配列番号5)

10

25

を示している。

第26図および第27図に、PCRの結果を示す。第26図および第27図は、縦軸にそれぞれのPCR産物を、横軸にPCRのサイクル回数をとり、グラフに表したものである。ネオマイシン耐性遺伝子の場合、逆転写酵素によりcDNAを合成したもの(+RT)と、逆転写酵素を加えないコントロール(-RT)で、得られたPCR産物量の増幅の差は小さかった(第26図)。これは、cDNAのみならず、細胞内に残っているベクターもPCRの鋳型となって増幅されたことを示す。他方、標的配列mRNAでは、逆転写酵素を添加した場合(+RT)と添加しない場合(-RT)とによる差が大きかった(第27図)。この結果は、プライマー対Tのうちの一方がイントロンをはさむ形でデザインされているため、イントロンが除去されたmRNAに由来するcDNAが効率的に増幅される一方、イントロンを有する残存ベクターが鋳型となりにくくなっていること

- 3. siRNAによる標的mRNAの発現抑制
- (1) ターゲット発現ベクターへの評価配列のクローニング
- 15 ヒトビメンチン (VIM) 遺伝子(RefSeqID: NM\_003380) コード領域の812
   -834、35-57に相当する配列を評価の対象とした。これらの配列および
   EcoRI、XhoI の認識配列を有する下記配列表配列番号6および7の合成オリゴヌクレオチド (評価配列フラグメント)を作製した。

評価配列VIM35 (VIMの35-57に相当)

20 5'-gaattegcaggatgtteggcggcccgggcctcgag-3' (配列番号6)

評価配列VIM812 (VIMの812-834に相当)

5'-gaatteacgtacgtcagcaatatgaaagtetegag-3' (配列番号7)

得られた評価配列フラグメントの両端にある EcoRI、XhoI サイトを利用し、p TRECの EcoRI、XhoI サイト間に、新たな標的配列としてクローニングし、p TREC-VIM35、pTREC-VIM812を構築した。

(2) siRNAの作製

評価配列VIM35(配列表配列番号8、第28図)、評価配列VIM812 (配列番号9、第29図)、及びコントロール配列(siContorol、配列番号10 、第30図)にそれぞれ相当するsiRNAフラグメントを合成し、アニーリングした。下記siRNAの各配列においては、3、末端にオーバーハング部を設けてある。

siVIM35 5'-aggauguucggcggcccgggc-3' (配列番号8)

5 siVIM812 5'-guacgucagcaauaugaaagu-3' (配列番号9)
コントロールとして、ルシフェラーゼ遺伝子に対するsiRNAを用いた。
siControl 5'-cauucuauccgcuggaagaug-3' (配列番号10)

(3) 培養細胞へのトランスフェクション

24穴プレートの1穴あたりに0.2~0.3×10°cellsのHeLa 24穴プレートの1穴あたりに0.2~0.3×10°cellsのHeLa 2000 (Invitrogen 社製)を用いて、マニュアルにしたがって0.5μgのpTREC-VIM35またはpTREC-VIM812と、それぞれのVIM由来配列に相当する100nMのsiRNA(siVIM35、siVIM812)を同時にトランスフェクトした。コントロール細胞には、0.5μgのpTREC-VIM35またはpTREC-VIM812と100nMのルシフェラーゼ遺伝子に対するsiRNA(siControl)を同時にトランスフェクトした。

# (4) 細胞の回収およびmRNAの定量

20

25

トランスフェクションの1日後、細胞を回収し、Trizol(Invitrogen)を用いて全RNAを抽出した。このRNA100ngを用いて、オリゴ (dT)をプライマーとし、SuperScript II RT (Invitrogen 社製)により逆転写してcDNAを得た。得られたcDNAの320分の1量をPCRテンプレートとし、SYBR Green PCR Master Mix(Applied Biosystems 社製)を用いて、50μ1の反応系で定量的PCRを行い、評価しようとするVIM由来の配列を含むmRNA (mRNA(T)と称する)および内部コントロールとして、pTREC上のネオマイシン耐性遺伝子に由来するmRNA (mRNA(C)と称する)を定量した。定量的PCRにはリアルタイムモニタリング装置 ABI PRIZM7000(Applied Biosystems 社製)を用い、mRNA(T)の定量にはプライマー対T(配列表配列番号2および3)、mRNA(C)の定量にはプライマー対C(配列表配列番

号4および5)をそれぞれ使用した。得られたそれぞれのmRNAの値の比(T/C)を縦軸(標的mRNA相対量(%))としてグラフに表した(第31図)

コントロール細胞の場合、ルシフェラーゼ遺伝子に対するsiRNAは標的mRNAに効果を及ぼさないため、T/C比はほぼ1になった。VIM812 siRNAでは、T/C比が著しく下がった。これは、VIM812 siRNAが、相当する配列を有するmRNAを切断したためであり、VIM812 siRNAがRNAi効果を有することが示された。一方、VIM35 siRNAの場合、T/C比はコントロールとほぼ同じ値であったことから、VIM35の配列にはRNAi効果がほとんどないことが示された。

# [実施例3]

5

10

15

20

25

- 1. s i RNAによる内在性ビメンチンの発現抑制
- (1) 培養細胞へのトランスフェクション

24欠プレートの1欠あたりに $0.2\sim0.3\times10^6$  c e 11 s のHeL a 細胞をまき、1 日後に Lipofectamine 2000(Invitrogen 社製)を用いて、マニュアルにしたがって、V I Mに対する s i RNA(s i V I M3 5 または s i V I M8 12)またはコントロール s i RNA(s i Control)100 n M、トランスフェクション効率のコントロールとして $0.5\mu$  gのp E G F P(Clontech 社製)を同時にトランスフェクトした。p E G F P は E G F P が組み込まれている。

# (2) 内在性ビメンチンmRNAの測定

トランスフェクションの3日後、細胞を回収し、Trizol (Invitrogen 社製)を用いて全RNAを抽出した。このRNA100ngを用いて、オリゴ (dT)をプライマーとし、SuperScript II RT (Invitrogen 社製)により逆転写してcDNA合成反応を行なった。得られたcDNA産物を鋳型として、ビメンチンに対するプライマーVIM-F3-84、VIM-R3-274 (配列番号11、12)を用いてPCRを行った。

VIM-F3-84; gagctacgtgactacgtcca (配列番号11)

VIM-R3-274; gttcttgaactcggtgttgat (配列番号12)

また、コントロールとして、 $\beta$  ーアクチンに対するプライマーACTB-F2-481、ACTB-R2-664(配列番号 1 3 、 1 4 )を用いてPCRを行い、各サンプル間の  $\beta$  ーアクチンの定量値を合わせたうえで、ビメンチンの発現量を評価した。

5 ACTB-F2-481; cacactgtgcccatctacga (配列番号13)

ACTB-R2-664; gccatctcttgctcgaagtc (配列番号14)

結果を第32図に示す。第32図では、siControl(すなわち、標的とは無関係な配列)を入れた場合を100%として比較し、VIMに対するsiRNAを入れた場合に、VIMのmRNAがどの程度減少したかを表している。

10 s i V I M-8 1 2 は効果的にV I M mRNAを抑制できたのに対して、s i V I M-3 5 を用いた場合はほとんどRNA i 効果を示さなかった。

# (3) 細胞の抗体染色

15

トランスフェクションの3日後、細胞を3.7%のホルムアルデヒドにより固定し、定法によりブロッキングを行った。その後、ウサギ抗ビメンチン抗体( $\alpha$  -VIM)または内部コントロールとしてウサギ抗Yes抗体( $\alpha-Yes$ )を加え、室温で反応させた。その後、細胞表面をPBS(Phosphate Buffered Saline; リン酸緩衝生理食塩水)で洗浄し、二次抗体として蛍光標識抗ウサギIg G抗体を加え、室温で反応させた。細胞表面をPBSで洗浄の後、蛍光顕微鏡による観察を行った。

20 蛍光顕微鏡観察の結果を第33図に示す。第33図中、9つの各枠内において白く現れている部分が蛍光部分である。EGFPおよびYesについては、何れの細胞でも同程度の発現が確認された。siControl、siVIM35を導入した細胞では、ビメンチンの抗体染色による蛍光が観察され、内在性ビメンチンの存在が確認された。一方、siVIM812を導入した細胞では、siControl、siVIM35を導入した細胞に比べて蛍光が著しく弱かった。この結果は、siVIM35を導入した細胞に比べて蛍光が著しく弱かった。この結果は、siVIM812により内在性のビメンチンmRNAが干渉を受けた結果、ビメンチンの蛋白質の発現量が減少したことを示すものであり、siV

IM812は内在性ビメンチンmRNAにもRNAi効果を有することが明らかになった。

本発明のアッセイ系で得られた結果 [実施例2] は、実際に内在性遺伝子に対してそれぞれのsiRNAを用いた結果 [実施例3] とよく一致していたため、このアッセイ系は任意のsiRNAのRNAi活性を評価する方法として有効であることが示された。

### [実施例4]

5

10

15

上記所定の規則 (a)  $\sim$  (d) に基づき塩基配列を設計した。塩基配列の設計は、上記 s i RNA配列設計プログラムを実行する塩基配列処理装置によって行った。塩基配列は、RNA i 活性を有すると予測される配列 15 種(配列番号 15  $\sim$  29)と、RNA i 活性を有しないと予測される配列 5 種(配列番号 30  $\sim$  34)を用意した。

設計された配列に基づき標的配列および評価対象のsiRNAを調製する以外は、上記実施例1と同様にして、ルシフェラーゼ活性を測定することにより、RNAi活性の評価を行った。結果を第34図に示す。ルシフェラーゼ相対活性値が低いものが効いている状態、すなわちRNAi活性を備えたsiRNAである。上記プログラムによりRNAi活性を有すると予測されたsiRNAは、全てルシフェラーゼの発現を効果的に抑制した。

[RNAi活性を示した配列;規定配列部分、オーバーハング部を含まない]

20 5, gacgccaaaaacataaaga (配列番号15)

184, gttggcagaagctatgaaa (配列番号16)

272, gtgttgggcgcgttattta (配列番号17)

309, ccgcgaacgacatttataa (配列番号18)

428, ccaatcatccaaaaaatta (配列番号19)

25 515, cctcccggttttaatgaat (配列番号20)

658, gcatgccagagatcctatt (配列番号21)

695, ccggatactgcgattttaa (配列番号22)

734, ggttttggaatgtttacta (配列番号23)

774, gatttcgagtcgtcttaat (配列番号24)

891, gcactctgattgacaaata (配列番号25)

904, caaatacgatttatctaat (配列番号26)

1186, gattatgtccggttatgta (配列番号27)

5 1306, ccgcctgaagtctctgatt (配列番号28)

1586, ctcgacgcaagaaaaatca (配列番号29)

[RNAi活性を示さなかった配列;規定配列部分、オーバーハング部を含まない]

14, aacataaagaaaggcccgg (配列番号30)

10 265, tatgccggtgttgggcgcg (配列番号31)

295, agttgcagttgcgcccgcg (配列番号32)

411, acgtgcaaaaaaagctccc (配列番号33)

1044, ttctgattacacccgaggg (配列番号34)

# [実施例5]

25

SARSウィルスに対するsiRNAを設計し、それらのRNAi活性を調べた。標的配列および評価対象の配列をそれぞれ変更する以外は、RNAi活性は上記実施例2と同様のアッセイを行うことにより評価した。

s i RNAは、SARSウィルスのゲノムから、3CL-PRO、RdRp、Spike glycoprotein、Small envelope E protein、Membrane glycoprotein M、

20 Nucleocapsid protein、s2m motif の各所について、上記 s i R N A配列設計プログラムを用い所定の規則性に合致するものを設計した。

第35図アッセイの結果、規則性に合致するように設計した11個のsiRNAは、それぞれ対応するsiRNAの配列をターゲットとして組み込んだRNAを効果的に抑制した。siControl(SARS)とは関係のない配列)を入れた場合を100%として、SARSの各siRNAを入れた場合の相対標的mRNA量を示す。各siRNAを入れた場合、標的のmRNAが10%程度あるいはそれ以下まで減少しており、mRNAi活性があることが確認された。

[設計した s i R N A の配列 (規定配列部分、オーバーハング部を含まない)]

siControl; gggcgggtcggtaaagtt (配列番号35)
3CL-PRO; SARS-10754; ggaattgccgtcttagata (配列番号36)
3CL-PRO; SARS-10810; gaatggtcgtactatcctt (配列番号37)
RdRp; SARS-14841; ccaagtaatcgttaacaat (配列番号38)
5 Spike glycoprotein; SARS-23341; gcttggcgcatatattcta (配列番号39)
Spike glycoprotein; SARS-24375; cctttcgcgacttgataaa (配列番号40)
Small envelope E protein; SARS-26233; gtgcgtactgctgcaatat (配列番号41)

Small envelope E protein; SARS-26288; ctactcgcgtgttaaaaat (配列番号42)
Membrane glycoprotein M; SARS-26399; gcagacaacggtactatta (配列番号43)
Membrane glycoprotein M; SARS-27024; ccggtagcaacgacaatat (配列番号44)
Nucleocapsid protein; SARS-28685; cgtagtcgcggtaattcaa (配列番号45)

s2m motif; SARS-29606; gatcgagggtacagtgaat (配列番号46)

15 [実施例 6]

上記「<5>siRNA配列設計プログラム」および「<7>siRNA配列設計プログラムを実行する塩基配列処理装置等」に従って、下記siRNAを設計した。設計されたsiRNAの配列を配列表の配列番号 47~配列番号 892に示す。

### 20 (RNA i 対象遺伝子)

NM\_000604, Homo sapiens fibroblast growth factor receptor 1 (fms-related tyrosine kinase 2, Pfeiffer syndrome) (FGFR1).

## (標的配列)

NM\_000604-807, gtagcaacgtggagttcat (配列番号 47)

25 NM\_000604-806, ggtagcaacgtggagttca (配列番号 48)

NM\_000604-811, caacgtggagttcatgtgt (配列番号 49)

NM\_000604-880, ggtgaatgggagcaagatt (配列番号 50)

NM\_000604-891, gcaagattggcccagacaa (配列番号 51)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_000604-818, gagttcatgtgtaaggtgt (配列番号 52)

(RNAi対象遺伝子)

NM\_000141, Homo sapiens fibroblast growth factor receptor 2 (bacteria-expressed kinase, keratinocyte growth factor receptor, craniofacial dysostosis 1, Crouzon syndrome, Pfeiffer syndrome, Jackson-Weiss syndrome) (FGFR2).

(標的配列)

NM\_000141-612, gaggctacaaggtacgaaa (配列番号 53)

10 NM\_000141-615, gctacaaggtacgaaacca (配列番号 54)

NM\_000141-637, ctggagcctcattatggaa (配列番号 55)

NM\_000141-574, gaaaaacgggaaggagttt (配列番号 56)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_000141-595, gcaggagcatcgcattgga (配列番号 57)

15 NM\_000141-69, ccttcagtttagttgagga (配列番号 58)

NM\_000141-70, cttcagtttagttgaggat (配列番号 59)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_000142, Homo sapiens fibroblast growth factor receptor 3 (achondroplasia, thanatophoric dwarfism) (FGFR3).

20 (標的配列)

NM\_000142-899, gacggcacaccctacgtta (配列番号 60)

NM\_000142-1925, cacaacctcgactactaca (配列番号 61)

NM\_000142-2154, gcacacacgacctgtacat (配列番号 62)

NM\_000142-678, cctgcgtcgtggagaacaa (配列番号 63)

25 NM\_000142-2157, cacacgacctgtacatgat (配列番号 64)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_000142-812, gagttccactgcaaggtgt (配列番号 65)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_004448, Homo sapiens v-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 2, neuro/glioblastoma derived oncogene homolog (avian) (ERBB2). (標的配列)

NM\_004448-356, ggagacccgctgaacaata (配列番号 66)

5 NM\_004448-3645, ccttcgacaacctctatta (配列番号 67)

NM\_004448-3237, gggctggctccgatgtatt (配列番号 68)

NM\_004448-3238, ggctggctccgatgtattt (配列番号 69)

NM\_004448-3240, ctggctccgatgtatttga (配列番号 70)

# 10 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_001982, Homo sapiens v-erb-b2 erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 3 (avian) (ERBB3).

(標的配列)

NM\_001982-1347, gtgctgggcgtatctatat (配列番号 71)

15 NM\_001982-1349, gctgggcgtatctatataa (配列番号 72)

NM\_001982-1548, gcttgtcctgtcgaaatta (配列番号 73)

NM\_001982-1549, cttgtcctgtcgaaattat (配列番号 74)

NM\_001982-2857, cattcgcccaacctttaaa (配列番号 75)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_005235, Homo sapiens v-erb-a erythroblastic leukemia viral oncogene homolog 4 (avian) (ERBB4).

(標的配列)

NM\_005235-295, ggagaatttacgcattatt (配列番号 76)

NM\_005235-2120, gctcaacttcgtattttga (配列番号 77)

25 NM\_005235-2940, ctcaaagatacctagttat (配列番号 78)

NM\_005235-2121, ctcaacttcgtattttgaa (配列番号 79)

NM\_005235-2880, ctgacagtagacctaaatt (配列番号 80)

(RNAi 対象遺伝子)

 $NM_002227$ , Homo sapiens Janus kinase 1 (a protein tyrosine kinase) (JAK1).

(標的配列)

NM\_002227-441, ctcagggacagtatgattt (配列番号 81)

5 NM\_002227-1299, cagaatacgccatcaataa (配列番号 82)

NM\_002227-673, gatgcggataaataatgtt (配列番号 83)

NM\_002227-672, ggatgcggataaataatgt (配列番号 84)

NM\_002227-3385, ctttcagaaccttattgaa (配列番号 85)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

10 NM\_002227-607, cagctacaagcgatatatt (配列番号 86)

NM\_002227-3042, caattgaaaccgataagga (配列番号 87)

NM\_002227-2944, gggttctcggcaatacgtt (配列番号 88)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_004972, Homo sapiens Janus kinase 2 (a protein tyrosine kinase)

15 (JAK2).

(標的配列)

NM\_004972-2757, ctggtcggcgtaatctaaa (配列番号89)

NM\_004972-2759, ggtcggcgtaatctaaaat (配列番号 90)

NM\_004972-2760, gtcggcgtaatctaaaatt (配列番号 91)

20 NM\_004972-3175, ggaatttatgcgtatgatt (配列番号 92)

NM\_004972-1452, ctgttcgctcagacaatat (配列番号 93)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_004972-872, ggaaacggtggaattcagt (配列番号 94)

NM\_004972-870, ctggaaacggtggaattca (配列番号 95)

25 NM\_004972-847, gatttttgcaaccattata (配列番号 96)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_000215, Homo sapiens Janus kinase 3 (a protein tyrosine kinase, leukocyte) (JAK3).

### (標的配列)

NM\_000215-2315, gtcattcgtgacctcaata (配列番号 97)

NM\_000215-2522, gacccgctagcccacaata (配列番号 98)

NM\_000215-2524, cccgctagcccacaataca (配列番号 99)

5 NM\_000215-1788, ccatggtgcaggaatttgt (配列番号 100)

NM\_000215-1825, catgtatctgcgaaaacgt (配列番号 101)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_003331, Homo sapiens tyrosine kinase 2 (TYK2). (標的配列)

10 NM\_003331-3213, gcctgaaggagtataagtt (配列番号 102)

NM\_003331-2658, cggaccctacggttttcca (配列番号 103)

NM\_003331-299, ctatatttccgcataaggt (配列番号 104)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_003331-2674, ccacaagcgctatttgaaa (配列番号 105)

15 NM\_003331-2675, cacaagcgctatttgaaaa (配列番号 106)

NM\_003331-328, gaactggcatggcatgaat (配列番号 107)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_001079, Homo sapiens zeta-chain (TCR) associated protein kinase 70kDa (ZAP70).

### 20 (標的配列)

NM\_001079-512, gaggccgagcgcaaacttt (配列番号 108)

NM\_001079-1512, ggtacgcacccgaatgcat (配列番号 109)

NM\_001079-242, gagetetgegagttetact (配列番号 110)

NM\_001079-929, gacacgagcgtgtatgaga (配列番号 111)

25 NM\_001079-1412, cggcactacgccaagatca (配列番号 112)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_001079-1566, ggagctatggggtcaccat (配列番号 113)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_005417, Homo sapiens v-src sarcoma (Schmidt-Ruppin A-2) viral oncogene homolog (avian) (SRC).

(標的配列)

NM\_005417-185, ctgttcggaggcttcaact (配列番号 114)

5 NM\_005417-685, ggtggcctactactccaaa (配列番号 115)

NM\_005417-474, gggagtcagagcggttact (配列番号 116)

NM\_005417-480, cagageggttactgctcaa (配列番号 117)

NM\_005417-567, cagtgtctgacttcgacaa (配列番号 118)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

10 NM\_005417-651, cctcccgcacccagttcaa (配列番号 119)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002350, Homo sapiens v-yes-1 Yamaguchi sarcoma viral related oncogene homolog (LYN).

(標的配列)

15 NM\_002350-610, cagcgacatgattaaacat (配列番号 120)

NM\_002350-533, gttattaagcactacaaaa (配列番号 121)

NM\_002350-606, gtatcagcgacatgattaa (配列番号 122)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002350-783, ggatgggttactataacaa (配列番号 123)

NM\_002350-694, gaagccatgggataaagat (配列番号 124)

NM\_002350-541, gcactacaaaattagaagt (配列番号 125)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_005157, Homo sapiens v-abl Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1 (ABL1).

25 (標的配列)

20

NM\_005157-232, cactctaagcataactaaa (配列番号 126)

NM\_005157-770, gagggcgtgtggaagaaat (配列番号 127)

NM\_005157-262, ccgggtcttaggctataat (配列番号 128)

NM\_005157-264, gggtcttaggctataatca (配列番号 129)

NM\_005157-484, catctcgctgagatacgaa (配列番号 130)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_005157-217, ggccagtggagataacact (配列番号 131)

5 NM\_005157-1227, gcctggcctacaacaagtt (配列番号 132)

NM\_005157-680, gtgtcccccaactacgaca (配列番号 133)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_005158, Homo sapiens v-abl Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 2 (arg, Abelson-related gene) (ABL2).

10 (標的配列)

NM\_005158-3273, ctcaaactcgcaacaaatt (配列番号 134)

NM\_005158-3272, cctcaaactcgcaacaaat (配列番号 135)

NM\_005158-1425, ctaaggtttatgaacttat (配列番号 136)

NM\_005158-448, gctcagcagtctaatcaat (配列番号 137)

15 NM\_005158-3110, caggccgctgagaaaatct (配列番号 138) (RNAi 対象遺伝子)

NM\_004071, Homo sapiens CDC-like kinase 1 (CLK1). (標的配列)

NM\_004071-1215, ccaggaaacgtaaatattt (配列番号 139)

20 NM\_004071-774, catttcgactggatcatat (配列番号 140)

NM\_004071-1216, caggaaacgtaaatatttt (配列番号 141)

NM\_004071-973, ctttggtagtgcaacatat (配列番号 142)

NM\_004071-463, cgtactaagtgcaagatat(配列番号 143)

(RNAi 対象遺伝子)

25 NM\_001291, Homo sapiens CDC-like kinase 2 (CLK2). (標的配列)

NM\_001291-202, gtatgaccggcgatactgt (配列番号 144)

NM\_001291-225, gctacagacgcaacgatta (配列番号 145)

NM\_001291-226, ctacagacgcaacgattat (配列番号 146)

NM\_001291-45, ggagttaccgtgaacacta (配列番号 147)

NM\_001291-46, gagttaccgtgaacactat (配列番号 148)

(RNAi 対象遺伝子)

5 NM\_001292, Homo sapiens CDC-like kinase 3 (CLK3). (標的配列)

NM\_001292-189, gccgtgacagcgatacata (配列番号 149)

NM\_001292-72, cctacagtcgggaacatga (配列番号 150)

NM\_001292-73, ctacagtcgggaacatgaa (配列番号 151)

10 NM\_001292-188, cgccgtgacagcgatacat (配列番号 152)

NM\_001292-121, gcctccccacgaagatct (配列番号 153)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_001292-388, ggtgaaggcacctttggca (配列番号 154) (RNAi 対象遺伝子)

15 NM\_020666, Homo sapiens CDC-like kinase 4 (CLK4). (標的配列)

NM\_020666-617, gtattagagcacttaaata (配列番号 155)

NM\_020666-1212, gaaaacgcaagtattttca (配列番号 156)

NM\_020666-1348, cctggttcgaagaatgtta (配列番号 157)

20 NM\_020666-181, cttgaatgagcgagattat (配列番号 158)

NM\_020666-803, cagatetgccagtcaataa (配列番号 159)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_020666-457, cgttctaagagcaagatat (配列番号 160)

NM\_020666-446, caaagtggagacgttctaa (配列番号 161)

25 NM\_020666-461, ctaagagcaagatatgaaa (配列番号 162)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002093, Homo sapiens glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3B). (標的配列)

NM\_002093-326, gtccgattgcgttatttct (配列番号 163)

NM\_002093-307, gctagatcactgtaacata (配列番号 164)

NM\_002093-451, gacgetecetgtgatttat (配列番号 165)

NM\_002093-632, cccaatgtttcgtatatct (配列番号 166)

5 NM\_002093-623, cgaggagaacccaatgttt (配列番号 167)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002093-206, gtatatcaagccaaacttt (配列番号 168)

NM\_002093-195, catttggtgtgtgtatatca (配列番号 169)

NM\_002093-205, ggtatatcaagccaaactt (配列番号 170)

10 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_182691, Homo sapiens SFRS protein kinase 2 (SRPK2).

(標的配列)

NM\_182691-1312, gccaaatggacgacataaa (配列番号 171)

NM\_182691-1313, ccaaatggacgacataaaa (配列番号 172)

15 NM\_182691-1314, caaatggacgacataaaat (配列番号 173)

NM\_182691-1985, ctgateccgatgttagaaa (配列番号 174)

NM\_182691-233, ggccggtatcatgttatta (配列番号 175)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_005430, Homo sapiens wingless-type MMTV integration site family,

20 member 1 (WNT1).

(標的配列)

NM\_005430-614, ggccgtacgaccgtattct (配列番号 176)

NM\_005430-205, gcgtctgatacgccaaaat (配列番号 177)

NM\_005430-855, cccacgacctcgtctactt (配列番号 178)

25 NM\_005430-196, caaacagcggcgtctgata (配列番号 179)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_005430-875, gagaaatcgcccaacttct (配列番号 180)

NM\_005430-863, ctcgtctacttcgagaaat (配列番号 181)

NM\_005430-860, gacctcgtctacttcgaga (配列番号 182)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_003391, Homo sapiens wingless-type MMTV integration site family member 2 (WNT2).

5 (標的配列)

NM\_003391-111, gggtgatgtgcgataatgt (配列番号 183)

NM\_003391-681, ggaaaacgggcgattatct (配列番号 184)

NM\_003391-764, gctaacgagaggtttaaga (配列番号 185)

NM\_003391-765, ctaacgagaggtttaagaa (配列番号 186)

10 NM\_003391-295, ggtcctactccgaagtagt (配列番号 187)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_003391-797, gacctcgtgtattttgaga (配列番号 188)

NM\_003391-790, gaaaaatgacctcgtgtat (配列番号 189) ·

NM\_003391-789, cgaaaaatgacctcgtgta (配列番号 190)

15 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_004625, Homo sapiens wingless-type MMTV integration site family, member 7A (WNT7A).

(標的配列)

NM\_004625-92, ctgggcgcaagcatcatct (配列番号 191)

20 NM\_004625-313, gttcacctacgccatcatt (配列番号 192)

NM\_004625-524, gcccggactctcatgaact (配列番号 193)

NM\_004625-480, gcttcgccaaggtctttgt (配列番号 194)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_004625-205, cctggacgagtgtcagttt (配列番号 195)

NM\_004625-209, gacgagtgtcagtttcagt (配列番号 196)

NM\_004625-172, catcategteataggagaa (配列番号 197)

(RNAi 対象遺伝子)

25

NM\_004626, Homo sapiens wingless—type MMTV integration site family, member 11 (WNT11).

(標的配列)

NM\_004626-543, gatcccaagccaataaact (配列番号 198)

5 NM\_004626-917, gacagctgcgaccttatgt (配列番号 199)

NM\_004626-915, gcgacagctgcgaccttat (配列番号 200)

NM\_004626-54, ccggcgtgtgctatggcat (配列番号 201)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_004626-59, gtgtgctatggcatcaagt (配列番号 202)

10 NM\_004626-560, ctgatgcgtctacacaaca (配列番号 203)

NM\_004626-562, gatgcgtctacacaacagt (配列番号 204)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_030753, Homo sapiens wingless-type MMTV integration site family, member 3 (WNT3).

15 (標的配列)

NM\_030753-417, gctgtgactcgcatcataa (配列番号 205)

NM\_030753-483, ctgacttcggcgtgttagt (配列番号 206)

NM\_030753-485, gacttcggcgtgttagtgt (配列番号 207)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

20 NM\_030753-887, gaccggacttgcaatgtca (配列番号 208)

NM\_030753-56, ctcgctggctacccaattt (配列番号 209)

NM\_030753-59, gctggctacccaatttggt (配列番号 210)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_033131, Homo sapiens wingless-type MMTV integration site family,

member 3A (WNT3A).

(標的配列)

NM\_033131-2, gccccactcggatacttct (配列番号 211)

NM\_033131-3, ccccactcggatacttctt (配列番号 212)

NM\_033131-4, cccactcggatacttctta (配列番号 213)

NM\_033131-77, gctgttgggccacagtatt (配列番号 214)

NM\_033131-821, gaggectegeceaacttct (配列番号 215)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

5 NM\_033131-168, ggaactacgtggagatcat (配列番号 216)

NM\_033131-50, ggcagctacccgatctggt (配列番号 217)

NM\_033131-165, gcaggaactacgtggagat (配列番号 218)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_003392, Homo sapiens wingless-type MMTV integration site family,

member 5A (WNT5A).

(標的配列)

NM\_003392-91, gtggtcgctaggtatgaat (配列番号 219)

NM\_003392-93, ggtcgctaggtatgaataa (配列番号 220)

NM\_003392-307, ggataacacctctgttttt (配列番号 221)

15 NM\_003392-57, ccttcgcccaggttgtaat (配列番号 222)

NM\_003392-87, cttggtggtcgctaggtat (配列番号 223)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_003392-163, ccaactggcaggactttct (配列番号 224)

NM\_003392-116, gttcagatgtcagaagtat (配列番号 225)

20 NM\_003392-102, gtatgaataaccctgttca (配列番号 226)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_004196, Homo sapiens cyclin-dependent kinase-like 1 (CDC2-related kinase) (CDKL1).

(標的配列)

25 NM\_004196-405, cgaaacattccgtgattaa (配列番号 227)

NM\_004196-305, ctcgtgaagagcataactt (配列番号 228)

NM\_004196-458, ggaccgagtgactactata (配列番号 229)

NM\_004196-844, gttgcatcacccatatttt (配列番号 230)

NM\_004196-330, cactgcaagctgtaaattt (配列番号 231)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_004196-119, gatgaccctgtcataaaga (配列番号 232)

(RNAi 対象遺伝子)

5 NM\_003948, Homo sapiens cyclin-dependent kinase-like 2 (CDC2-related kinase) (CDKL2).

(標的配列)

NM\_003948-623, gatcagctatatcatatta (配列番号 233)

NM\_003948-1379, ccatcaggcatttataaca (配列番号 234)

10 NM\_003948-1380, catcaggcatttataacat (配列番号 235)

NM\_003948-768, ctgaagtggtgatagattt (配列番号 236)

NM\_003948-626, cagctatatcatattatga(配列番号 237)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_003948-325, gattattaatggaattgga (配列番号 238)

15 NM\_003948-1012, ggtacaggataccaatgct (配列番号 239)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_016508, Homo sapiens cyclin-dependent kinase-like 3 (CDKL3). (標的配列)

NM\_016508-498, gagetcccgaattagtatt (配列番号 240)

20 NM\_016508-500, gctcccgaattagtattaa (配列番号 241)

NM\_016508-1290, cacccatcaatctaactaa (配列番号 242)

NM\_016508-1301, ctaactaacagtaatttga (配列番号 243)

NM\_016508-501, ctcccgaattagtattaaa (配列番号 244)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

25 NM\_016508-785, gttcatgcttgtttacaaa (配列番号 245)

NM\_016508-555, ctttgggctgtatgatcat (配列番号 246)

NM\_016508-776, gcagatatagttcatgctt (配列番号 247)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002745, Homo sapiens mitogen—activated protein kinase 1 (MAPK1). (標的配列)

NM\_002745-746, gaagacctgaattgtataa (配列番号 248)

NM\_002745-276, caaccatcgagcaaatgaa (配列番号 249)

5 NM\_002745-849, ccaaagetctggacttatt (配列番号 250)

NM\_002745-749, gacctgaattgtataataa (配列番号 251)

NM\_002745-113, gtgtgctctgcttatgata (配列番号 252)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002745-220, cttactgcgcttcagacat (配列番号 253)

10 NM\_002745-228, gcttcagacatgagaacat (配列番号 254)

NM\_002745-224, ctgcgcttcagacatgaga (配列番号 255)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_016231, Homo sapiens nemo-like kinase (NLK). (標的配列)

15 NM\_016231-450, gagtagcgctcaaaaagat (配列番号 256)

NM\_016231-1074, gcgctaaggcacatatact (配列番号 257)

NM\_016231-962, ctactaggacgaagaatat (配列番号 258)

NM\_016231-579, ctccacacattgactattt (配列番号 259)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

20 NM\_016231-703, gattttgcgaggtttgaaa (配列番号 260)

NM\_016231-1382, gtccgacaggttaaagaaa (配列番号 261)

NM\_016231-1384, ccgacaggttaaagaaatt (配列番号 262)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_001315, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase 14 (MAPK14).

25 (標的配列)

NM\_001315-401, ctccgaggtctaaagtata (配列番号 263)

NM\_001315-403, ccgaggtctaaagtatata (配列番号 264)

NM\_001315-251, ggtctgttggacgttttta (配列番号 265)

NM\_001315-212, ctgcggttacttaaacata (配列番号 266)

NM\_001315-405, gaggtctaaagtatataca (配列番号 267)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_001315-664, gtttcctggtacagaccat (配列番号 268)

5 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_002751, Homo sapiens mitogen—activated protein kinase 11 (MAPK11). (標的配列)

NM\_002751-366, gcgacgagcacgttcaatt (配列番号 269)

NM\_002751-667, cccgggaagcgactacatt (配列番号 270)

10 NM\_002751-669, cgggaagcgactacattga (配列番号 271)

NM\_002751-731, gaggttctggcaaaaatct (配列番号 272)

NM\_002751-729, ctgaggttctggcaaaaat (配列番号 273)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002969, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase 12 (MAPK12).

15 (標的配列)

NM\_002969-1018, gaagcgtgttacttacaaa (配列番号 274)

NM\_002969-262, gctgctggacgtattcact (配列番号 275)

NM\_002969-1017, ggaagcgtgttacttacaa (配列番号 276)

NM\_002969-578, cccgaggtcatcttgaatt (配列番号 277)

20 NM\_002969-1013, gaatggaagcgtgttactt (配列番号 278)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002754, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase 13 (MAPK13). (標的配列)

NM\_002754-164, ctgagccgaccctttcagt (配列番号 279)

25 NM\_002754-174, cctttcagtccgagatctt (配列番号 280)

NM\_002754-978, ccttagaacacgagaaact (配列番号 281)

NM\_002754-285, ccctgcgcaacttctatga (配列番号 282)

NM\_002754-287, ctgcgcaacttctatgact (配列番号 283)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_139049, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase 8 (MAPK8). (標的配列)

NM\_139049-449, gacttaaagcccagtaata(配列番号 284)

5 NM\_139049-213, gagagctagttcttatgaa (配列番号 285)

NM\_139049-451, cttaaagcccagtaatata (配列番号 286)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_139049-525, caggaacgagttttatgat (配列番号 287)

NM\_139049-524, gcaggaacgagttttatga(配列番号 288)

10 NM\_139049-283, gaaatccctagaagaattt (配列番号 289)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002752, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase 9 (MAPK9). (標的配列)

NM\_002752-116, gtttgtgctgcatttgata (配列番号 290)

15 NM\_002752-204, gagcttatcgtgaacttgt (配列番号 291)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002752-878, gccagagatctgttatcaa (配列番号 292)

NM\_002752-879, ccagagatctgttatcaaa (配列番号 293)

NM\_002752-880, cagagatctgttatcaaaa (配列番号 294)

20 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_002753, Homo sapiens mitogen—activated protein kinase 10 (MAPK10). (標的配列)

NM\_002753-668, gtggtgacacgttattaca (配列番号 295)

NM\_002753-957, cggactccgagcacaataa (配列番号 296)

25 NM\_002753-958, ggactccgagcacaataaa (配列番号 297)

NM\_002753-811, gtggaataaggtaattgaa (配列番号 298)

NM\_002753-1212, ctaaaaatggtgtagtaaa (配列番号 299)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002753-1167, ggaaagaacttatctacaa (配列番号 300)

NM\_002753-584, gtagtcaagtctgattgca (配列番号 301)

NM\_002753-761, gaaatggttcgccacaaaa (配列番号 302)

(RNAi 対象遺伝子)

5 NM\_001786, Homo sapiens cell division cycle 2, G1 to S and G2 to M (CDC2).

(標的配列)

NM\_001786-782, gatttgctctcgaaaatgt (配列番号 303)

NM\_001786-788, ctctcgaaaatgttaatct (配列番号 304)

10 NM\_001786-658, gggcactcccaataatgaa (配列番号 305)

NM\_001786-696, ctttacaggactataagaa (配列番号 306)

NM\_001786-562, gagtataggcaccatattt (配列番号 307)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_001786-869, gacaatcagattaagaaga (配列番号 308)

15 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_001798, Homo sapiens cyclin-dependent kinase 2 (CDK2).

(標的配列)

NM\_001798-224, ctctacctggtttttgaat (配列番号 309)

NM\_001798-690, cttctatgcctgattacaa (配列番号 310)

20 NM\_001798-770, gatggacggagcttgttat (配列番号 311)

NM\_001798-226, ctacctggtttttgaattt (配列番号 312)

NM\_001798-36, gcacgtacggagttgtgta (配列番号 313)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_000075, Homo sapiens cyclin-dependent kinase 4 (CDK4).

25 (標的配列)

NM\_000075-45, cctatgggacagtgtacaa (配列番号 314)

NM\_000075-616, gatgtttcgtcgaaagcct (配列番号 315)

NM\_000075-161, cgtgaggtggctttactga (配列番号 316)

NM\_000075-35, ggtgtcggtgcctatggga (配列番号 317)

NM\_000075-242, cgaactgaccgggagatca (配列番号 318)

(RNAi 対象遺伝子)

 $NM_052984$ , Homo sapiens cyclin-dependent kinase 4 (CDK4), transcript

5 variant 2, mRNA., 228..563, 0

(標的配列)

NM\_052984-248, gaccgggagatcaagagat (配列番号 319)

NM\_052984-251, cgggagatcaagagatgtt (配列番号 320)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_001799, Homo sapiens cyclin-dependent kinase 7 (M015 homolog, Xenopus laevis, cdk-activating kinase) (CDK7).

(標的配列)

NM\_001799-242, ggacataaatctaatatta (配列番号 321)

NM\_001799-104, caaattgtcgccattaaga (配列番号 322)

15 NM\_001799-490, ccccaatagagcttataca (配列番号 323)

NM\_001799-20, cgggcaaagcgttatgaga (配列番号 324)

NM\_001799-21, gggcaaagcgttatgagaa (配列番号 325)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_001799-345, cctacatgttgatgactct (配列番号 326)

20 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_000455, Homo sapiens serine/threonine kinase 11 (Peutz-Jeghers syndrome) (STK11).

(標的配列)

NM\_000455-306, ggaggttacggcacaaaaa (配列番号 327)

25 NM\_000455-307, gaggttacggcacaaaaat (配列番号 328)

NM\_000455-309, ggttacggcacaaaaatgt (配列番号 329)

NM\_000455-1157, cccaaggccgtgtgtatga (配列番号 330)

NM\_000455-1158, ccaaggccgtgtgtatgaa (配列番号 331)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_000455-916, cagctggttccggaagaaa (配列番号 332) (RNAi 対象遺伝子)

NM\_001274, Homo sapiens CHK1 checkpoint homolog (S. pombe) (CHEK1).

5 (標的配列)

NM\_001274-456, cagtatttcggtataataa (配列番号 333)

NM\_001274-361, gcatggtattggaataact (配列番号 334)

NM\_001274-990, gcccctcatacattgataa (配列番号 335)

NM\_001274-1038, ccacatgtcctgatcatat (配列番号 336)

10 NM\_001274-227, ggcaatatccaatatttat (配列番号 337)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_001274-573, ggtcctgtggaatagtact (配列番号 338)

NM\_001274-416, gaaagggataacctcaaaa (配列番号 339)

NM\_001274-577, ctgtggaatagtacttact (配列番号 340)

15 (RNAi 対象遺伝子)

20

NM\_002648, Homo sapiens pim-1 oncogene (PIM1). (標的配列)

NM\_002648-831, ggccaaccttcgaagaaat (配列番号 341)

NM\_002648-601, cgatgggacccgagtgtat (配列番号 342)

NM\_002648-602, gatgggacccgagtgtata (配列番号 343)

NM\_002648-293, ggtttctccggcgtcatta (配列番号 344)

NM\_002648-834, caacettegaagaaateea (配列番号 345)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002648-96, ccctggagtcgcagtacca (配列番号 346)

25 NM\_002648-203, gtggagaaggaccggattt (配列番号 347)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_006875, Homo sapiens pim-2 oncogene (PIM2). (標的配列)

NM\_006875-698, ggggacattccctttgaga (配列番号 348)

NM\_006875-242, ctcgaagtcgcactgctat (配列番号 349)

NM\_006875-245, gaagtcgcactgctatgga (配列番号 350)

NM\_006875-499, gaacatcctgatagaccta (配列番号 351)

5 NM\_006875-468, gtggagttgtccatcgtga (配列番号 352)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_021643, Homo sapiens tribbles homolog 2 (TRB2). (標的配列)

NM\_021643-174, cttgtatcgggaaatactt (配列番号 353)

10 NM\_021643-71, gaagagttgtcgtctataa (配列番号 354)

NM\_021643-177, gtatcgggaaatacttatt (配列番号 355)

NM\_021643-524, ctcaagctgcggaaattca (配列番号 356)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

15 NM\_021643-41, gggagatcgcggaacaaaa (配列番号 357)

NM\_021643-382, gttctttgagcgaagctat (配列番号 358)

NM\_021643-143, cccgagactccgaacttgt (配列番号 359)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_007118, Homo sapiens triple functional domain (PTPRF interacting) (TRIO).

(標的配列)

NM\_007118-1684, caccaatgcggataaatta (配列番号 360)

NM\_007118-1686, ccaatgcggataaattact (配列番号 361)

25 NM\_007118-3857, gaaatctacgaatttcata (配列番号 362)

NM\_007118-6395, gagcagatcgtcatattca (配列番号 363)

NM\_007118-8531, cctatccgtagcattaaaa (配列番号 364)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_004938, Homo sapiens death—associated protein kinase 1 (DAPK1). (標的配列)

NM\_004938-917, caatccgttcgcttgatat (配列番号 365)

NM\_004938-1701, ggtgtttcgtcgattatca (配列番号 366)

5 NM\_004938-1702, gtgtttcgtcgattatcaa (配列番号 367)

NM\_004938-2824, gaaggtacttcgaaatcat (配列番号 368)

NM\_004938-668, gaaacgttagcaaatgtat (配列番号 369)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_004938-609, gggtaataacctatatcct (配列番号 370)

10 NM\_004938-2697, gaggcgagtttggatatga (配列番号 371)

NM\_004938-490, ggcccataaaattgacttt (配列番号 372)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_006252, Homo sapiens protein kinase, AMP-activated, alpha 2 catalytic subunit (PRKAA2).

15 (標的配列)

NM\_006252-760, gaaacgagcaactatcaaa (配列番号 373)

NM\_006252-148, gaagattcgcagtttagat (配列番号 374)

NM\_006252-1227, gcaaaccgtatgacattat (配列番号 375)

NM\_006252-1338, ctggcaattacgtgaaaat (配列番号 376)

20 NM\_006252-1340, ggcaattacgtgaaaatga (配列番号 377)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002742, Homo sapiens protein kinase C, mu (PRKCM). (標的配列)

NM\_002742-508, ggtacgtcaaggtcttaaa (配列番号 378)

25 NM\_002742-1332, gattggatagcaaatgtat (配列番号 379)

NM\_002742-509, gtacgtcaaggtcttaaat (配列番号 380)

NM\_002742-370, ggaaggcgatcttattgaa (配列番号 381)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

84

NM\_002742-1913, caccetggtgttgtaaatt (配列番号 382)

NM\_002742-2041, cataacgaagtttttaatt (配列番号 383)

NM\_002742-2521, ctatcagacctggttagat (配列番号 384)

(RNAi 対象遺伝子)

5 NM\_003684, Homo sapiens MAP kinase-interacting serine/threonine kinase 1 (MKNK1).

(標的配列)

NM\_003684-218, gagtatgccgtcaaaatca (配列番号 385)

NM\_003684-229, caaaatcatcgagaaacaa (配列番号 386)

10 NM\_003684-344, gatgacacaaggttttact (配列番号 387)

NM\_003684-192, gtgccgtgagcctacagaa (配列番号 388)

NM\_003684-379, gcaaggaggttccatctta (配列番号 389)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_004759, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase-activated protein kinase 2 (MAPKAPK2).

(標的配列)

NM\_004759-942, ccatcaccgagtttatgaa (配列番号 390)

NM\_004759-836, cgaatgggccagtatgaat (配列番号 391)

NM\_004759-563, cctgagaatctcttataca (配列番号 392)

20 NM\_004759-669, gttatacaccgtactatgt (配列番号 393)

NM\_004759-362, gatgtgtacgagaatctgt (配列番号 394)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_172171, Homo sapiens calcium/calmodulin-dependent protein kinase (CaM kinase) II gamma (CAMK2G).

25

15

(標的配列)

NM\_172171-113, gagtacgcagcaaaaatca (配列番号 395)

NM\_172171-422, ctgctgctggcgagtaaat (配列番号 396)

NM\_172171-1075, ggtacacaacgctacagat (配列番号 397)

NM\_172171-474, gcctagccatcgaagtaca (配列番号 398)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_172171-425, ctgctggcgagtaaatgca (配列番号 399)

5 NM\_172171-260, ctcgtgtttgaccttgtta (配列番号 400)

NM\_172171-597, gcggggtcatcctgtatat (配列番号 401)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_015981, Homo sapiens calcium/calmodulin-dependent protein kinase (CaM kinase) II alpha (CAMK2A).

10 (標的配列)

NM\_015981-1213, ccatcgattctattttgaa (配列番号 402)

NM\_015981-1210, cttccategattctatttt (配列番号 403)

NM\_015981-1067, cggaaacaggaaattataa (配列番号 404)

NM\_015981-1066, gcggaaacaggaaattata (配列番号 405)

15 NM\_015981-754, gaccattaacccatccaaa (配列番号 406)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_015981-1130, gagtcctacacgaagatgt (配列番号 407)

NM\_015981-1416, ggcagatcgtccacttcca (配列番号 408)

NM\_015981-1418, cagategtecacttecaca (配列番号 409)

20 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_020439, Homo sapiens calcium/calmodulin-dependent protein kinase IG (CAMK1G).

(標的配列)

25

NM\_020439-1354, ggtcatggtaccagttaaa (配列番号 410)

NM\_020439-1409, ggagtctgtctcattatgt (配列番号 411)

NM\_020439-639, gtggatacccccattcta (配列番号 412)

NM\_020439-823, ctggattgacggaaacaca (配列番号 413)

NM\_020439-662, gaaacggagtctaagcttt (配列番号 414).

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_020439-85, gggatcaggagctttctca (配列番号 415)

NM\_020439-903, gcaagtggaggcaagcctt (配列番号 416)

(RNAi 対象遺伝子)

5 NM\_007194, Homo sapiens CHK2 checkpoint homolog (S. pombe) (CHEK2). (標的配列)

NM\_007194-460, ctcttacattgcatacata (配列番号 417)

NM\_007194-201, ctcaggaactctattctat (配列番号 418)

NM\_007194-1233, gtttaggagttattctttt (配列番号 419)

10 NM\_007194-398, gataaataccgaacataca (配列番号 420)

NM\_007194-396, cagataaataccgaacata(配列番号 421)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_007194-614, gtagatgatcagtcagttt (配列番号 422)

NM\_007194-620, gatcagtcagtttatccta (配列番号 423)

15 NM\_007194-612, ctgtagatgatcagtcagt (配列番号 424) (RNAi 対象遺伝子)

 $NM_002610$ , Homo sapiens pyruvate dehydrogenase kinase, isoenzyme 1 (PDK1).

(標的配列)

20 NM\_002610-1194, gactcccagtgtataacaa (配列番号 425)

NM\_002610-553, catgagtcgcatttcaatt (配列番号 426)

NM\_002610-306, ggacaccatccgttcaatt (配列番号 427)

NM\_002610-1086, gtctttacgcacaatactt (配列番号 428)

NM\_002610-388, ggatgctaaagctatttat (配列番号 429)

25 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_001619, Homo sapiens adrenergic, beta, receptor kinase 1 (ADRBK1). (標的配列)

NM\_001619-474, gggacgtgttccagaaatt (配列番号 430)

NM\_001619-317, gagatcttcgactcataca (配列番号 431)

NM\_001619-665, gacaaaaagcgcatcaaga (配列番号 432)

NM\_001619-439, gccatacatcgaagagatt (配列番号 433)

NM\_001619-476, gacgtgttccagaaattca (配列番号 434)

5 (マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_001619-1476, caaaaggaatcaagttact (配列番号 435)

MM\_001619-1474, cacaaaaggaatcaagtta (配列番号 436)

NM\_001619-1171, ccggcagcacaagaccaaa (配列番号 437)

(RNAi 対象遺伝子)

10 NM\_005160, Homo sapiens adrenergic, beta, receptor kinase 2 (ADRBK2). (標的配列)

NM\_005160-1779, gagagtcccggcaaaattt (配列番号 438)

NM\_005160-1778, ggagagtcccggcaaaatt (配列番号 439)

NM\_005160-1373, cagcatgtctacttacaaa (配列番号 440)

15 NM\_005160-307, cagaagtcgacaaatttat (配列番号 441)

NM\_005160-306, gcagaagtcgacaaattta (配列番号 442)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_003161, Homo sapiens ribosomal protein S6 kinase, 70kDa, polypeptide 1 (RPS6KB1).

20 (標的配列)

NM\_003161-1294, ccgatcacctcgaagattt (配列番号 443)

NM\_003161-1556, cacctgcgtatgaatctat (配列番号 444)

NM\_003161-1296, gatcacctcgaagatttat (配列番号 445)

NM\_003161-831, gtttgggagcattaatgta (配列番号 446)

25 NM\_003161-1295, cgatcacctcgaagattta (配列番号 447)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_014496, Homo sapiens ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 6 (RPS6KA6).

(標的配列)

NM\_014496-682, gaaggettactcattttgt (配列番号 448)

NM\_014496-1552, ggaggctagtgatatacta (配列番号 449)

NM\_014496-1553, gaggctagtgatatactat (配列番号 450)

5 NM\_014496-1551, gggaggctagtgatatact (配列番号 451)

NM\_014496-1481, cttgttacggatttaatga (配列番号 452)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_014496-831, gaaatgagaccatgaatat (配列番号 453)

10 NM\_014496-1411, gatgcgctatggacaacat (配列番号 454)

NM\_014496-927, ggaatccagcaaatagatt (配列番号 455)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002953, Homo sapiens ribosomal protein S6 kinase, 90kDa, polypeptide 1 (RPS6KA1).

15 (標的配列)

NM\_002953-739, ctatggggtgttgatgttt (配列番号 456)

NM\_002953-1331, gctgtcaaggtcattgata (配列番号 457)

NM\_002953-1332, ctgtcaaggtcattgataa (配列番号 458)

NM\_002953-735, ggtcctatggggtgttgat (配列番号 459)

20 NM\_002953-738, cctatggggtgttgatgtt (配列番号 460)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002953-666, gcgggacagtggagtacat (配列番号 461)

NM\_002953-832, gctaggcatgccccagttt (配列番号 462)

NM\_002953-1315, caccaacatggagtatgct (配列番号 463)

25 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_001626, Homo sapiens v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 2 (AKT2).

(標的配列)

NM\_001626-141, ctctaccccccttaaacaa (配列番号 464)

NM\_001626-35, cacaagegtggtgaataca (配列番号 465)

MM\_001626-143, ctacccccttaaacaact (配列番号 466)

NM\_001626-41, cgtggtgaatacatcaaga (配列番号 467)

5 NM\_001626-420, gcaaggcacgggctaaagt (配列番号 468)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_005163, Homo sapiens v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1 (AKT1).

(標的配列)

10 NM\_005163-1294, gactgacaccaggtatttt (配列番号 469)

NM\_005163-1296, ctgacaccaggtattttga (配列番号 470)

NM\_005163-1292, gagactgacaccaggtatt (配列番号 471)

NM\_005163-751, cttctatggcgctgagatt (配列番号 472)

NM\_005163-630, cagecetgaagtactettt (配列番号 473)

15 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_005465, Homo sapiens v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 3 (protein kinase B, gamma) (AKT3).

(標的配列)

NM\_005465-229, ccagtggactactgttata (配列番号 474)

20 NM\_005465-99, cattcataggatataaaga (配列番号 475)

NM\_005465-402, cctctacaacccatcataa (配列番号 476)

NM\_005465-1283, gagacagatactagatatt (配列番号 477)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_005465-733, ggaccgcacacgtttctat (配列番号 478)

25 NM\_005465-1317, cageteagactattacaat (配列番号 479)

NM\_005465-1319, gctcagactattacaataa (配列番号 480)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_005627, Homo sapiens serum/glucocorticoid regulated kinase (SGK).

(標的配列)

WO 2004/048566

NM\_005627-875, ggcctgccgcctttttata (配列番号 481)

NM\_005627-97, gggtctgaacgactttatt (配列番号 482)

NM\_005627-99, gtctgaacgactttattca (配列番号 483)

5 NM\_005627-190, ggagcctgagcttatgaat (配列番号 484)

NM\_005627-413, gaggagaagcatattatgt (配列番号 485)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_005627-649, catcgtttatagagactta (配列番号 486)

NM\_005627-367, ctatgcagtcaaagtttta (配列番号 487)

10 NM\_005627-307, gatcggaaagggcagtttt (配列番号 488)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_170693, Homo sapiens serum/glucocorticoid regulated kinase 2 (SGK2). (標的配列)

NM\_170693-163, gtctgatggggcgttctat (配列番号 489)

15 NM\_170693-840, cagactttcttgagattaa (配列番号 490)

NM\_170693-842, gactttcttgagattaaga (配列番号 491)

NM\_170693-582, gtggtacccctgagtactt (配列番号 492)

NM\_170693-183, cagtgaaggtactacagaa (配列番号 493)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

20 NM\_170693-287, gtgggcctgcgctactcct (配列番号 494)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_013257, Homo sapiens serum/glucocorticoid regulated kinase-like (SGKL).

(標的配列)

25 NM\_013257-273, caggactaaacgaattcat (配列番号 495)

NM\_013257-944, gacaccactaccacatttt (配列番号 496)

NM\_013257-1388, gtatcttctgactattcta (配列番号 497)

NM\_013257-946, caccactaccacattttgt (配列番号 498)

NM\_013257-790, gttttacgctgctgaaatt (配列番号 499)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_013257-693, caactgaaaagctttattt (配列番号 500)

NM\_013257-225, gaatatttggtgataattt (配列番号 501)

5 NM\_013257-38, ccaagtgtaagcattccca (配列番号 502) (RNAi 対象遺伝子)

NM\_002744, Homo sapiens protein kinase C, zeta (PRKCZ). (標的配列)

NM\_002744-1233, gcggaaccccgaattacat (配列番号 503)

10 NM\_002744-398, caagccaagcgctttaaca (配列番号 504)

NM\_002744-1447, caaagcctcccatgtttta (配列番号 505)

NM\_002744-823, ccaaatttacgccatgaaa (配列番号 506)

NM\_002744-1100, cacgagagggggatcatct (配列番号 507)

(RNAi 対象遺伝子)

15 NM\_006254, Homo sapiens protein kinase C, delta (PRKCD). (標的配列)

NM\_006254-1524, geggeaccectgactatat (配列番号 508)

NM\_006254-1339, ctaccgtgccacgttttat (配列番号 509)

NM\_006254-992, gggacctacggcaagatct (配列番号 510)

20 (マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_006254-172, gttcgacgcccacatctat (配列番号 511)

NM\_006254-659, cagaaagaacgcttcaaca (配列番号 512)

NM\_006254-761, gtgaagcagggattaaagt (配列番号 513)

(RNAi 対象遺伝子)

25 NM\_002737, Homo sapiens protein kinase C, alpha (PRKCA). (標的配列)

NM\_002737-1571, ggcgtcctgttgtatgaaa (配列番号 514)

NM\_002737-393, gtgacacctgcgatatgaa (配列番号 515)

NM\_002737-711, gacgactgtctgtagaaat (配列番号 516)

NM\_002737-1085, gaactgtatgcaatcaaaa (配列番号 517)

NM\_002737-1924, gctggttattgctaacata (配列番号 518)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

5 NM\_002737-1958, gaagggttctcgtatgtca (配列番号 519)

NM\_002737-1835, ccattcaagcccaaagtgt (配列番号 520)

NM\_002737-1234, gctgtacttcgtcatggaa (配列番号 521)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002738, Homo sapiens protein kinase C, beta 1 (PRKCB1).

10 (標的配列)

NM\_002738-573, cagatecetacgtaaaact (配列番号 522)

NM\_002738-1791, catttttccggtatattga (配列番号 523)

NM\_002738-1384, catttaccgtgacctaaaa (配列番号 524)

NM\_002738-575, gatccctacgtaaaactga (配列番号 525)

15 NM\_002738-1315, ggagccccatgctgtattt (配列番号 526)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002738-1006, gatgaaactgaccgatttt (配列番号 527)

NM\_002738-1961, gaattcgaaggattttcct (配列番号 528)

NM\_002738-1233, ccatggaccgcctgtactt (配列番号 529)

20 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_015282, Homo sapiens cytoplasmic linker associated protein 1 (CLASP1). (標的配列)

NM\_015282-2447, gagccgtatgggatgtatt (配列番号 530)

NM\_015282-4151, gccgagctgacgattatga(配列番号 531)

25 NM\_015282-4152, ccgagctgacgattatgaa (配列番号 532)

NM\_015282-1786, gcgatctcgaagtgatatt (配列番号 533)

NM\_015282-635, cagtcccggttgaatgtaa (配列番号 534)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_006287, Homo sapiens tissue factor pathway inhibitor (lipoprotein-associated coagulation inhibitor) (TFPI).

## (標的配列)

NM\_006287-225, ctcgacagtgcgaagaatt (配列番号 535)

5 NM\_006287-227, cgacagtgcgaagaattta (配列番号 536)

NM\_006287-228, gacagtgcgaagaatttat (配列番号 537)

NM\_006287-230, cagtgcgaagaatttatat(配列番号 538)

NM\_006287-393, gaatatgtcgaggttatat (配列番号 539)

(RNAi 対象遺伝子)

10 NM\_004073, Homo sapiens cytokine—inducible kinase (CNK). (標的配列)

NM\_004073-1283, gttgactactccaataagt (配列番号 540)

NM\_004073-138, gcgcctacgctgtcaaagt (配列番号 541)

NM\_004073-239, cgccacatcgtgcgttttt (配列番号 542)

15 NM\_004073-1281, gggttgactactccaataa (配列番号 543)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_004073-192, gcgagaagatcctaaatga (配列番号 544)

NM\_004073-183, cgcatcagcgcgagaagat (配列番号 545)

20 NM\_004073-190, gcgcgagaagatcctaaat (配列番号 546) (RNAi 対象遺伝子)

NM\_003384, Homo sapiens vaccinia related kinase 1 (VRK1). (標的配列)

NM\_003384-776, ccttgggaggataatttga(配列番号 547)

25 NM\_003384-773, cttccttgggaggataatt (配列番号 548)

NM\_003384-195, caccttgtgttgtaaaagt (配列番号 549)

NM\_003384-777, cttgggaggataatttgaa (配列番号 550)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_003384-372, gttacaggtttatgataat (配列番号 551)

NM\_003384-463, gcagctaagcttaagaatt (配列番号 552)

NM\_003384-977, ggactaaaagctataggaa (配列番号 553)

5 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_006296, Homo sapiens vaccinia related kinase 2 (VRK2).

(標的配列)

NM\_006296-366, gactaggaatagatttaca (配列番号 554)

NM\_006296-165, caagacatgtagtaaaagt (配列番号 555)

10 NM\_006296-874, ggtatgtgctcatagttta (配列番号 556)

NM\_006296-541, ggtttatcttgcagattat (配列番号 557)

NM\_006296-113, ggatttggattgatatatt (配列番号 558)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_006296-560, ggactttcctacagatatt (配列番号 559)

NM\_006296-626, cataatgggacaatagagt (配列番号 560)

NM\_006296-568, ctacagatattgtcccaat (配列番号 561)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_004672, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase kinase 6 (MAP3K6).

20 (標的配列)

15

NM\_004672-2221, ctttctcctccgaactttt (配列番号 562)

NM\_004672-1489, gatgttggagtttgattat (配列番号 563)

NM\_004672-814, caaagagctccggctaata (配列番号 564)

NM\_004672-51, ccctgcgggaggatgtttt (配列番号 565)

25 NM\_004672-503, gccgagcagcataatgtct (配列番号 566)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_004672-442, ggactactcggccatcatt (配列番号 567)

NM\_004672-277, ctatttccgggagaccatt (配列番号 568)

95

NM\_004672-1929, ggctgctcaagatttctga (配列番号 569)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_005923, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5 (MAP3K5).

5 (標的配列)

NM\_005923-3294, gatccactgaccgaaaaat (配列番号 570)

NM\_005923-838, caggaaagctcgtaattta (配列番号 571)

NM\_005923-840, ggaaagctcgtaatttata (配列番号 572)

NM\_005923-1525, gtacctcaagtctattgta (配列番号 573)

10 NM\_005923-2517, ctggtaccctccagtatat (配列番号 574)

(RNAi 対象遺伝子)

 $NM_020998$ , Homo sapiens macrophage stimulating 1 (hepatocyte growth factor-like) (MST1).

(標的配列)

15 NM\_020998-943, ccgatttacgccagaaaaa (配列番号 575)

NM\_020998-944, cgatttacgccagaaaaat (配列番号 576)

NM\_020998-945, gatttacgccagaaaaata (配列番号 577)

NM\_020998-698, ggtctggacgacaactatt (配列番号 578)

NM\_020998-1827, ccaaaggtacgggtaatga (配列番号 579)

20 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_003576, Homo sapiens serine/threonine kinase 24 (STE20 homolog, yeast) (STK24).

(標的配列)

NM\_003576-348, gctccgcactagatctatt (配列番号 580)

25 NM\_003576-349, ctccgcactagatctatta (配列番号 581)

NM\_003576-351, ccgcactagatctattaga (配列番号 582)

NM\_003576-352, cgcactagatctattagaa (配列番号 583)

NM\_003576-437, ctccattcggagaagaaaa (配列番号 584)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_003576-148, gttcaaaggcattgacaat (配列番号 585)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_016542, Homo sapiens Mst3 and SOK1-related kinase (MST4).

5 (標的配列)

NM\_016542-857, ctgatagatcgttttaaga (配列番号 586)

NM\_016542-139, gcaagtcgttgctattaaa (配列番号 587)

NM\_016542-1133, gaagaactcgagaaaagta (配列番号 588)

NM\_016542-556, ggctcctgaagttattcaa (配列番号 589)

10 (マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_016542-613, gggaattactgctattgaa (配列番号 590)

NM\_016542-669, caatgagagttctgtttct (配列番号 591)

NM\_016542-1063, gataatcacacctgcattt (配列番号 592)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002576, Homo sapiens p21/Cdc42/Rac1-activated kinase 1 (STE20 homolog, yeast) (PAK1).

(標的配列)

NM\_002576-38, gcccctccgatgagaaata (配列番号 593)

NM\_002576-788, ggcgatcctaagaagaaat (配列番号 594)

20 NM\_002576-3, caaataacggcctagacat (配列番号 595)

NM\_002576-154, ccgattttaccgatccatt (配列番号 596)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002576-1020, gggttgttatggaatactt (配列番号 597)

NM\_002576-1165, catcaagagtgacaatatt (配列番号 598)

25 NM\_002576-1015, gctgtgggttgttatggaa (配列番号 599)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002577, Homo sapiens p21 (CDKN1A)—activated kinase 2 (PAK2).

(標的配列)

NM\_002577-721, cataggtgaccctaagaaa (配列番号 600)

NM\_002577-908, cccaacategttaactttt (配列番号 601)

NM\_002577-909, ccaacatcgttaacttttt (配列番号 602)

NM\_002577-557, ccggatcatacgaaatcaa (配列番号 603)

5 NM\_002577-558, cggatcatacgaaatcaat (配列番号 604)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002578, Homo sapiens p21 (CDKN1A)—activated kinase 3 (PAK3). (標的配列)

NM\_002578-458, catcettegagtacaaaaa (配列番号 605)

10 NM\_002578-1467, ctgtattccgtgacttttt (配列番号 606)

NM\_002578-1469, gtattccgtgactttttaa (配列番号 607)

NM\_002578-706, cacagatcggcaaagaaaa (配列番号 608)

NM\_002578-3, ctgacggtctggataatga (配列番号 609)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

15 NM\_002578-1376, cccccttaccttaatgaaa (配列番号 610)

NM\_002578-219, cagactttgagcatacgat (配列番号 611)

NM\_002578-254, gcagtcaccggggaattca (配列番号 612)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_005884, Homo sapiens p21(CDKN1A)-activated kinase 4 (PAK4).

20 (標的配列)

NM\_005884-1502, gggataatggtgattgaga (配列番号 613)

NM\_005884-1503, ggataatggtgattgagat (配列番号 614)

NM\_005884-883, gccacagcgagtatcccat (配列番号 615)

NM\_005884-77, cagcacgagcagaagttca (配列番号 616)

25 NM\_005884-1494, ggtcgctggggataatggt (配列番号 617)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002755, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase kinase 1 (MAP2K1).

PCT/JP2003/014893

## (標的配列)

NM\_002755-280, ggccagaaagctaattcat (配列番号 618)

NM\_002755-402, gcgatggcgagatcagtat (配列番号 619)

NM\_002755-404, gatggcgagatcagtatct (配列番号 620)

5 NM\_002755-682, ctacatgtcgccagaaaga (配列番号 621)

NM\_002755-1128, ccaccateggcettaacca (配列番号 622)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002755-912, gacctcccatggcaatttt (配列番号 623)

NM\_002755-915, ctcccatggcaatttttga (配列番号 624)

10 NM\_002755-911, cgacctcccatggcaattt (配列番号 625)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_030662, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase kinase 2 (MAP2K2).

## (標的配列)

15 NM\_030662-1136, gccggctggttgtgtaaaa (配列番号 626)

NM\_030662-184, caaggtcggcgaactcaaa (配列番号 627)

NM\_030662-959, ctcctggactatattgtga (配列番号 628)

NM\_030662-183, ccaaggtcggcgaactcaa (配列番号 629)

NM\_030662-711, ggttgcagggcacacatta (配列番号 630)

20 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_002756, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase kinase 3 (MAP2K3).

## (標的配列)

NM\_002756-257, cgcacggtcgactgtttct (配列番号 631)

25 NM\_002756-258, gcacggtcgactgtttcta (配列番号 632)

NM\_002756-289, ctacggggcactattcaga (配列番号 633)

NM\_002756-285, ccttctacggggcactatt (配列番号 634)

NM\_002756-44, gactcccggaccttcatca (配列番号 635)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002756-129, gagcctatggggtggtaga (配列番号 636)

NM\_002756-41, ctggactcccggaccttca (配列番号 637)

NM\_002756-89, gaggctgatgacttggtga (配列番号 638)

5 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_002758, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase kinase 6 (MAP2K6).

(標的配列)

NM\_002758-394, ggatacatcactagataaa (配列番号 639)

10 NM\_002758-395, gatacatcactagataaat (配列番号 640)

NM\_002758-755, cttcgatttccctatgatt (配列番号 641)

NM\_002758-340, cttttatggcgcactgttt (配列番号 642)

NM\_002758-399, catcactagataaattcta (配列番号 643)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

15 NM\_002758-312, ggacggtggactgtccatt (配列番号 644)

NM\_002758-418, caaacaagttattgataaa (配列番号 645)

NM\_002758-415, ctacaaacaagttattgat (配列番号 646)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_003010, Homo sapiens mitogen-activated protein kinase kinase 4 (MAP2K4).

(標的配列)

20

NM\_003010-543, ctacctcgtttgataagtt (配列番号 647)

NM\_003010-1130, gcatgctatgtttgtaaaa (配列番号 648)

NM\_003010-1056, ccaaaaggccaaagtataa (配列番号 649)

25 (マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_003010-1129, cgcatgctatgtttgtaaa (配列番号 650)

NM\_003010-1057, caaaaggccaaagtataaa (配列番号 651)

NM\_003010-452, gtaatgcggagtagtgatt (配列番号 652)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_016123, Homo sapiens interleukin-1 receptor-associated kinase 4 (IRAK4).

(標的配列)

5 NM\_016123-1299, gccaatgtcggcatgaaaa (配列番号 653)

NM\_016123-1073, gctttgcgtggagaaataa (配列番号 654)

NM\_016123-38, ctcaatgttggactaatta (配列番号 655)

NM\_016123-769, cctctgcttagtatatgtt (配列番号 656)

10 NM\_016123-1180, gttattgctagatattaaa (配列番号 657)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002880, Homo sapiens v-raf-1 murine leukemia viral oncogene homolog 1 (RAF1).

(標的配列)

15 NM\_002880-1703, gatcttagtaagctatata (配列番号 658)

NM\_002880-232, gcatgactgccttatgaaa (配列番号 659)

NM\_002880-1597, ctatggcatcgtattgtat (配列番号 660)

NM\_002880-1706, cttagtaagctatataaga (配列番号 661)

NM\_002880-568, cagacaactcttattgttt (配列番号 662)

20 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_000020, Homo sapiens activin A receptor type II-like 1 (ACVRL1). (標的配列)

NM\_000020-1453, caagaagacactacaaaaa (配列番号 663)

NM\_000020-722, gagactgagatctataaca (配列番号 664)

25 NM\_000020-1456, gaagacactacaaaaaatt (配列番号 665)

NM\_000020-728, gagatctataacacagtat (配列番号 666)

NM\_000020-846, getceetctacgaetttet (配列番号 667)

(RNAi 対象遺伝子)

WO 2004/048566

NM\_001105, Homo sapiens activin A receptor, type I (ACVR1). (標的配列)

NM\_001105-1456, cacagcactgcgtatcaaa (配列番号 668)

NM\_001105-428, gttgctctccgaaaattta (配列番号 669)

5 NM\_001105-431, gctctccgaaaatttaaaa (配列番号 670)

NM\_001105-1460, gcactgcgtatcaaaaaga (配列番号 671)

NM\_001105-1458, cagcactgcgtatcaaaaa (配列番号 672)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_001105-1306, caatgacccaagttttgaa (配列番号 673)

10 NM\_001105-1381, gttctcagacccgacatta (配列番号 674)

NM\_001105-281, caaggggactggtgtaaca (配列番号 675)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_004302, Homo sapiens activin A receptor, type IB (ACVR1B). (標的配列)

15 NM\_004302-609, cccgaaccatcgttttaca (配列番号 676)

NM\_004302-610, ccgaaccatcgttttacaa (配列番号 677)

NM\_004302-897, caattgaggggatgattaa (配列番号 678)

NM\_004302-857, cacgggtccctgtttgatt (配列番号 679)

NM\_004302-859, cgggtccctgtttgattat (配列番号 680)

20 (マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_004302-1119, gggtggggaccaaacgata (配列番号 681)

NM\_004302-1063, cctggctgtccgtcatgat (配列番号 682)

NM\_004302-1121, gtggggaccaaacgataca (配列番号 683)

(RNAi 対象遺伝子)

25 NM\_145259, Homo sapiens activin A receptor, type IC (ACVR1C). (標的配列)

NM\_145259-1419, ctgctcttcgtattaagaa (配列番号 684)

NM\_145259-956, gctcatcgagacataaaat (配列番号 685)

102

NM\_145259-825, gctccttatatgactattt (配列番号 686)

NM\_145259-959, catcgagacataaaatcaa (配列番号 687)

NM\_145259-1237, gtaccaattgccttattat (配列番号 688)

(RNAi 対象遺伝子)

5 NM\_004612, Homo sapiens transforming growth factor, beta receptor I (activin A receptor type II-like kinase, 53kDa) (TGFBR1).

(標的配列)

WO 2004/048566

NM\_004612-236, cgagataggccgtttgtat (配列番号 689)

NM\_004612-1451, gcattgcggattaagaaaa (配列番号 690)

10 NM\_004612-463, ccatcgagtgccaaatgaa (配列番号 691)

NM\_004612-492, cattagatcgcccttttat (配列番号 692)

NM\_004612-1449, cagcattgcggattaagaa (配列番号 693)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_004612-829, gttggtgtcagattatcat (配列番号 694)

15 NM\_004612-288, caacatattgctgcaatca (配列番号 695)

NM\_004612-839, gattatcatgagcatggat (配列番号 696)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_004836, Homo sapiens eukaryotic translation initiation factor 2-alpha kinase 3 (EIF2AK3).

20 (標的配列)

NM\_004836-1594, catagcaacaacgtttatt (配列番号 697)

NM\_004836-1419, catatgataatggttatta (配列番号 698)

NM\_004836-1900, ggtaatgcgagaagttaaa (配列番号 699)

NM\_004836-1248, ctaatgaaaacgcaattat (配列番号 700)

25 (マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_004836-784, ctttgaacttcggtatatt (配列番号 701)

NM\_004836-782, cactttgaactteggtata (配列番号 702)

NM\_004836-983, gaatgggagtaccagtttt (配列番号 703)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_001433, Homo sapiens ER to nucleus signalling 1 (ERN1). (標的配列)

NM\_001433-2407, cattgcacgagaattgata (配列番号 704)

5 NM\_001433-2277, caggctgcgtcttttacta (配列番号 705)

NM\_001433-2530, cgtgagcgacagaatagaa (配列番号 706)

NM\_001433-1149, ccaaacatcgggaaaatgt (配列番号 707)

NM\_001433-364, ggacatctggtatgttatt (配列番号 708)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

10 NM\_001433-319, cccatgccgaagttcagat (配列番号 709)

NM\_001433-2254, ctacacggtggacatcttt (配列番号 710)

NM\_001433-324, gccgaagttcagatggaat (配列番号 711)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_001278, Homo sapiens conserved helix-loop-helix ubiquitous kinase (CHUK).

(標的配列)

15

20

NM\_001278-746, ggagaagttcggtttagta(配列番号 712)

NM\_001278-1879, ggccctcagtaatatcaaa (配列番号 713)

NM\_001278-864, gacctgttgaccttacttt (配列番号 714)

NM\_001278-2150, ggccatttaagcactatta (配列番号 715)

NM\_001278-2151, gccatttaagcactattat (配列番号 716)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_001278-645, ctggatataggcctttttt (配列番号 717)

NM\_001278-1354, gttaagtcttcttagatat (配列番号 718)

25 NM\_001278-1203, gtttatctgattgtgtaaa (配列番号 719)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_014002, Homo sapiens inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase epsilon (IKBKE).

WO 2004/048566 PCT/JP2003/014893

(標的配列)

NM\_014002-2107, catcgaacggctaaataga (配列番号 720)

NM\_014002-1724, ctggataaggtgaatttca (配列番号 721)

NM\_014002-535, cctgcatcccgacatgtat (配列番号 722)

5 NM\_014002-1220, ctgcaggcggattacaaca (配列番号 723)

NM\_014002-1726, ggataaggtgaatttcagt (配列番号 724)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_014002-54, ccactgccagtgtgtacaa (配列番号 725)

(RNAi 対象遺伝子)

10 NM\_003177, Homo sapiens spleen tyrosine kinase (SYK). (標的配列)

NM\_003177-1222, caatgaccccgctcttaaa (配列番号 726)

NM\_003177-713, cagctagtcgagcattatt (配列番号 727)

NM\_003177-849, ggtcagcgggtggaataat (配列番号 728)

15 NM\_003177-715, gctagtcgagcattattct (配列番号 729)

NM\_003177-1389, gacatgtcaaggataagaa (配列番号 730)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_003177-1559, gctgatgaaaactactaca (配列番号 731)

NM\_003177-1028, gacacagaggtgtacgaga (配列番号 732)

20 NM\_003177-1560, ctgatgaaaactactacaa (配列番号 733)

(RNAi 対象遺伝子)

25

NM\_153831, Homo sapiens PTK2 protein tyrosine kinase 2 (PTK2). (標的配列)

NM\_153831-451, gaagagcgattatatgtta(配列番号 734)

NM\_153831-1889, gtaatcggtcgaattgaaa(配列番号 735)

NM\_153831-93, caatggagcgagtattaaa (配列番号 736)

NM\_153831-2747, ctggaccggtcgaatgata (配列番号 737)

NM\_153831-92, gcaatggagcgagtattaa (配列番号 738)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_153831-1767, ctccagagtcaatcaattt (配列番号 739)

NM\_153831-1766, gctccagagtcaatcaatt (配列番号 740)

NM\_153831-599, gttggtttaaagcgatttt (配列番号 741)

5 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_173174, Homo sapiens PTK2B protein tyrosine kinase 2 beta (PTK2B). (標的配列)

NM\_173174-1273, ggtcctgaatcgtattctt (配列番号 742)

NM\_173174-1776, ccccagagtccattaactt (配列番号 743)

10 NM\_173174-1723, ggacgaggactattacaaa (配列番号 744)

NM\_173174-2486, gaccccatggtttatatga (配列番号 745)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_173174-378, ggaggtatgaccttcaaat (配列番号 746)

NM\_173174-1182, gcagcatagagtcagacat (配列番号 747)

15 NM\_173174-376, gtggaggtatgaccttcaa (配列番号 748) (RNAi 対象遺伝子)

NM\_002944, Homo sapiens v-ros UR2 sarcoma virus oncogene homolog 1 (avian) (ROS1).

(標的配列)

20 NM\_002944-417, gaagctggacttatactaa (配列番号 749)

NM\_002944-2123, gacatggattggtataaca (配列番号 750)

NM\_002944-2163, cgaaaggcgacgtttttgt (配列番号 751)

NM\_002944-1385, caagccaagcgaatcattt (配列番号 752)

25 NM\_002944-416, ggaagctggacttatacta (配列番号 753)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002944-3048, ctgtcactccttataccta (配列番号 754)

NM\_002944-3044, ctttctgtcactccttata (配列番号 755)

106

NM\_002944-1051, caacatgtctgatgtatct (配列番号 756)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_004304, Homo sapiens anaplastic lymphoma kinase (Ki-1) (ALK). (標的配列)

5 NM\_004304-2469, ccacctacgtatttaagat (配列番号 757)

NM 004304-4067, cctgtataccggataatga (配列番号 758)

NM 004304-2468, gccacctacgtatttaaga (配列番号 759)

NM\_004304-4183, cgctttgccgatagaatat (配列番号 760)

NM\_004304-2922, gccacggggaagtgaatat (配列番号 761)

10 (マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_004304-3258, ccatcatgaccgactacaa (配列番号 762)

NM 004304-2833, caatgaccccgaaatggat (配列番号 763)

NM\_004304-3156, ccggcatcatgattgtgta (配列番号 764)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_000245, Homo sapiens met proto-oncogene (hepatocyte growth factor receptor) (MET).

(標的配列)

20

25

NM\_000245-2761, gaacagcgagctaaatata (配列番号 765)

NM\_000245-1271, cagcgcgttgacttattca (配列番号 766)

NM\_000245-1086, gtgcattccctatcaaata(配列番号 767)

NM\_000245-725, gattettaccccattaagt (配列番号 768)

NM\_000245-3619, caaagcgatgaaatatctt (配列番号 769)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_000245-2987, catttggataggcttgtaa (配列番号 770)

NM\_000245-801, ctctagatgctcagacttt (配列番号 771)

NM\_000245-2660, gttaaaggtgaagtgttaa (配列番号 772)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002529, Homo sapiens neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 1 (NTRK1).

(標的配列)

NM\_002529-2091, gcatcctgtaccgtaagtt (配列番号 773)

5 NM\_002529-345, ggctcagtcgcctgaatct (配列番号 774)

NM\_002529-347, ctcagtcgcctgaatctct (配列番号 775)

NM\_002529-953, ggctccgtgctcaatgaga (配列番号 776)

NM\_002529-1987, ggtcaagattggtgatttt (配列番号 777)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_006180, Homo sapiens neurotrophic tyrosine kinase, receptor, type 2 (NTRK2).

(標的配列)

NM\_006180-358, caattttacccgaaacaaa (配列番号 778)

NM\_006180-1642, catcaagcgacataacatt (配列番号 779)

15 NM\_006180-663, gtgatccggttcctaatat (配列番号 780)

NM\_006180-665, gatccggttcctaatatgt (配列番号 781)

NM\_006180-792, cttgtgtggcggaaaatct (配列番号 782)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_006180-562, cctgcagatacccaattgt (配列番号 783)

20 NM\_006180-898, ctggtgcattccattcact (配列番号 784)

NM\_006180-735, cacagggctccttaaggat (配列番号 785)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_000208, Homo sapiens insulin receptor (INSR). (標的配列)

25 NM\_000208-2562, gccctgtgacgcatgaaat (配列番号 786)

NM\_000208-2565, ctgtgacgcatgaaatctt (配列番号 787)

NM\_000208-3492, gcatggtcgcccatgattt (配列番号 788)

NM\_000208-3493, catggtcgcccatgatttt (配列番号 789)

108

NM\_000208-329, ggatcacgactgttcttta (配列番号 790)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_000208-2911, gattggaagtatttatcta (配列番号 791)

NM\_000208-902, caccaatacgtcattcaca (配列番号 792)

5 NM\_000208-1514, cggacatcttttgacaaga (配列番号 793)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_000323, Homo sapiens ret proto-oncogene (multiple endocrine neoplasia and medullary thyroid carcinoma 1, Hirschsprung disease) (RET).

(標的配列)

10 NM\_000323-2679, gcttgtcccgagatgttta (配列番号 794)

NM\_000323-3066, catctgactccctgattta (配列番号 795)

NM\_000323-3069, ctgactccctgatttatga (配列番号 796)

NM\_000323-2680, cttgtcccgagatgtttat (配列番号 797)

NM\_000323-2728, gggtcggattccagttaaa (配列番号 798)

15 (マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_000323-3159, ccacatggattgaaaacaa (配列番号 799)

NM\_000323-3156, cttccacatggattgaaaa(配列番号 800)

NM\_000323-3155, ccttccacatggattgaaa (配列番号 801)

(RNAi 対象遺伝子)

20 NM\_006293, Homo sapiens TYR03 protein tyrosine kinase (TYR03).

(標的配列)

25

NM\_006293-1494, gcatcagcgatgaactaaa (配列番号 802)

NM\_006293-2207, gaaaacgctgagatttaca(配列番号 803)

NM\_006293-2394, gccaggaccccttatacat(配列番号 804)

NM\_006293-2399, gaccccttatacatcaaca (配列番号 805)

NM\_006293-1493, ggcatcagcgatgaactaa(配列番号 806)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_182925, Homo sapiens fms-related tyrosine kinase 4 (FLT4).

109

(標的配列)

NM\_182925-758, gtgtgggctgagtttaact (配列番号 807)

NM\_182925-756, ccgtgtgggctgagtttaa (配列番号 808)

NM\_182925-1217, ggcctgaggcgcaacatca (配列番号 809)

5 NM\_182925-1827, gcaagaacgtgcatctgtt (配列番号 810)

NM\_182925-908, gacctgggctcgtatgtgt (配列番号 811)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_182925-2033, cggctcacgcagaacttga (配列番号812)

NM\_182925-330, gctactacaagtacatcaa (配列番号 813)

10 (RNAi 対象遺伝子)

15

25

NM\_004119, Homo sapiens fms-related tyrosine kinase 3 (FLT3). (標的配列)

NM\_004119-1569, gtgagacgatccttttaaa (配列番号 814)

NM\_004119-2490, gattggctcgagatatcat(配列番号 815)

NM\_004119-1571, gagacgatccttttaaact(配列番号 816)

NM\_004119-32, ccgctgctcgttgtttttt (配列番号 817)

NM\_004119-730, gttcacaatagatctaaat (配列番号 818)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

20 NM\_004119-92, gtgatcaagtgtgttttaa (配列番号 819)

NM\_004119-1483, ggtgtcgagcagtactcta (配列番号 820)

NM\_004119-1456, ggctaacagaaaagtgttt (配列番号 821)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002253, Homo sapiens kinase insert domain receptor (a type III receptor tyrosine kinase) (KDR).

(標的配列)

NM\_002253-617, gaaagttaccagtctatta (配列番号822)

NM\_002253-865, gagcaccttaactatagat (配列番号 823)

NM 002253-2020, gaatcagacgacaagtatt (配列番号 824)

NM\_002253-815, gtaaaccgagacctaaaaa (配列番号 825)

NM\_002253-2586, ggacagtagcagtcaaaat (配列番号 826)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

5 NM\_002253-3032, gtggctaagggcatggagt (配列番号 827)

NM\_002253-3627, ccaaattccattatgacaa(配列番号 828)

NM 002253-3626, cccaaattccattatgaca (配列番号 829)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_002609, Homo sapiens platelet-derived growth factor receptor, beta polypeptide (PDGFRB).

(標的配列)

10

NM\_002609-961, ggtgggcacactacaattt (配列番号830)

NM\_002609-2881, gttgggcgaaggttacaaa (配列番号 831)

NM\_002609-409, ctttctcacggaaataact (配列番号 832)

15 NM\_002609-278, gacacgggagaatactttt (配列番号 833)

NM\_002609-3048, gtgacaacgactatatcat (配列番号 834)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_002609-633, catccatcaacgtctctgt (配列番号 835)

NM\_002609-2784, cctccgacgagatctatga (配列番号 836)

20 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_005433, Homo sapiens v-yes-1 Yamaguchi sarcoma viral oncogene homolog 1 (YES1).

(標的配列)

NM\_005433-525, gaaatcaacgaggtatttt (配列番号 837)

25 NM\_005433-670, cacaaccagagcacaattt (配列番号 838)

NM\_005433-1333, gtatggtcggtttacaata (配列番号839)

NM\_005433-1331, ctgtatggtcggtttacaa (配列番号 840)

NM 005433-416, ggttatatcccgagcaatt (配列番号 841)

111

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_005433-953, caagaagctcagataatga(配列番号 842)

NM\_005433-1, gggctgcattaaaagtaaa (配列番号 843)

NM\_005433-4, ctgcattaaaagtaaagaa (配列番号 844)

5 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_002005, Homo sapiens feline sarcoma oncogene (FES).

(標的配列)

NM\_002005-1696, gattggacgggggaacttt (配列番号 845)

NM\_002005-2181, cacctgaggcccttaacta (配列番号 846)

NM\_002005-1553, ggctttcctagcattcctt(配列番号 847)

NM\_002005-683, gaatacctggagattagca (配列番号 848)

NM\_002005-74, ctactggagggcatgagaa (配列番号 849)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_000633, Homo sapiens B-cell CLL/lymphoma 2 (BCL2).

15 (標的配列)

10

20

NM\_000633-43, gatgaagtacatccattat (配列番号 850)

NM\_000633-41, gtgatgaagtacatccatt (配列番号 851)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_000633-452, gagttcggtggggtcatgt (配列番号 852)

NM\_000633-454, gttcggtggggtcatgtgt (配列番号 853)

NM\_000633-525, ggatgactgagtacctgaa (配列番号 854)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_001167, Homo sapiens baculoviral IAP repeat-containing 4 (BIRC4).

(標的配列)

25 NM\_001167-302, gccacgcagtctacaaatt (配列番号 855)

NM\_001167-794, gaagcacggatctttactt(配列番号 856)

NM\_001167-485, gaagaagctagattaaagt (配列番号 857)

NM 001167-402, cacatgcagactatctttt (配列番号 858)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

NM\_001167-71, gaagagtttaatagattaa (配列番号 859)

NM\_001167-68, gtagaagagtttaatagat (配列番号 860)

NM\_001167-1354, ctgtatggatagaaatatt (配列番号 861)

5 (RNAi 対象遺伝子)

NM\_139317, Homo sapiens baculoviral IAP repeat-containing 7 (livin) (BIRC7).

(標的配列)

NM\_139317-458, ctgctccggtcaaaaggaa (配列番号 862)

10 NM\_139317-457, cctgctccggtcaaaagga (配列番号 863)

NM\_139317-743, gagaggacgtgcaaggtgt (配列番号 864)

NM\_139317-774, ccgtgtccatcgtctttgt (配列番号 865)

NM\_139317-417, cctggacggagcatgccaa (配列番号 866)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_005036, Homo sapiens peroxisome proliferative activated receptor, alpha (PPARA).

(標的配列)

NM\_005036-922, gctaaaatacggagtttat (配列番号 867)

NM\_005036-1243, ccacceggacgatatettt (配列番号 868)

20 NM\_005036-711, cttttgtcatacatgatat (配列番号 869)

NM\_005036-498, cacacaacgcgattcgttt (配列番号 870)

NM\_005036-988, gctggtagcgtatggaaat (配列番号 871)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_138712, Homo sapiens peroxisome proliferative activated receptor,

25 gamma (PPARG).

(標的配列)

NM\_138712-953, ggagtccacgagatcattt (配列番号 872)

NM\_138712-304, ctccctcatggcaattgaa (配列番号 873)

NM\_138712-954, gagtccacgagatcattta (配列番号 874)

NM\_138712-445, ctgtcggatccacaaaaaa (配列番号 875)

NM\_138712-409, cagattgaagcttatctat (配列番号 876)

(マウスのホモログに対しても有効な標的配列)

5 NM\_138712-239, gcatctccaccttattatt (配列番号 877)

NM\_138712-688, ggcgagggcgatcttgaca (配列番号 878)

NM\_138712-664, gtccttcccgctgaccaaa (配列番号 879)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_004421, Homo sapiens dishevelled, dsh homolog 1 (Drosophila) (DVL1).

10 (標的配列)

NM\_004421-1173, ccgtcgtccgggtcatgca (配列番号 880)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_004422, Homo sapiens dishevelled, dsh homolog 2 (Drosophila) (DVL2). (標的配列)

15 NM\_004422-1253, gtccatacggacatggcat (配列番号 881)

(RNAi 対象遺伝子)

NM\_004423, Homo sapiens dishevelled, dsh homolog 3 (Drosophila) (DVL3). (標的配列)

NM\_004423-1197, gcctagacgacttccactt (配列番号 882)

20 (RNAi 対象遺伝子)

NC\_001802, Human immunodeficiency virus 1, complete genome.

(標的配列)

NC\_001802-8242, ggacagatagggttataga (配列番号 883)

NC\_001802-340, gcgagagcgtcagtattaa (配列番号 884)

25 NC\_001802-1222, gtagaccggttctataaaa (配列番号 885)

NC 001802-1818, cgacccctcgtcacaataa (配列番号 886)

NC\_001802-4973, gccctaggtgtgaatatca (配列番号 887)

NC\_001802-5224, gcttagggcaacatatcta(配列番号 888)

114

NC\_001802-550, gaagaacttagatcattat (配列番号 889)

NC\_001802-1777, gaactgtatcctttaactt (配列番号 890)

NC\_001802-3244, gaaagactcctaaatttaa (配列番号 891)

NC\_001802-5225, cttagggcaacatatctat (配列番号 892)

5

10

15

#### [発明の効果]

本発明よれば、実際にRNAi効果を示すsiRNAを高い確率で得ることができる。したがって、新規なsiRNAを調製する場合に、試験者の経験等に基づき実際にsiRNAを合成してRNAi効果を有するか否か確認するため試行錯誤を繰り返す労力を大幅に軽減できる。すなわち、本発明は、新規な配列を有するsiRNAの検索あるいは作製に極めて好適である。さらに、本発明により、所望のsiRNAを短時間で多種得ることができる。試行錯誤的にsiRNAを実際に作製する必要性が低減されるため、RNA干渉を利用する試験、製造などの方法に要するコストを大幅に削減することができる。また、本発明は、RNAi効果を利用したあらゆる試験、製造などの方法を大幅に簡略化させると共に、方法としての確実性は大幅に向上させることができる。本発明は、哺乳類などの高等動物を対象とするRNA干渉を行う際に特に有効性を発揮するものである

#### 20 産業上の利用可能性

以上のように、本発明は、RNA干渉(RNA interference)に関し、詳しくは、RNA干渉を利用した試験、製造などの効率を向上させる、RNA干渉を生じさせるポリヌクレオチドの配列設計方法等に関する。

115

#### 請求の範囲

- 1. RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列から、下記(a)から(d)の規則に 従う配列部位を検索する、RNA干渉の標的塩基配列の検索方法。
- 5 (a) 3'末端の塩基が、アデニン、チミンまたはウラシルである。
  - (b) 5 末端の塩基が、グアニンまたはシトシンである。
  - (c) 3 末端の7塩基の配列において、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチである。
  - (d) 塩基数が、細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせ得る数である。

10

- 2. 前記規則(c)において、7塩基のうち少なくとも3塩基以上がアデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上である、請求の範囲第1項に記載の標的塩基配列の検索方法。
- 3. 前記規則(d)において、塩基数が13~28である、請求の範囲第1項 または第2項に記載の標的塩基配列の検索方法。
- 4. 下記(a)から(d)の規則に従う塩基配列を標的遺伝子の塩基配列から 検索し、検索された塩基配列と相同な塩基配列を設計する、RNA干渉を生じさ 20 せるポリヌクレオチドの塩基配列設計方法。
  - (a) 3'末端の塩基が、アデニン、チミンまたはウラシルである。
  - (b) 5 末端の塩基が、グアニンまたはシトシンである。
  - (c) 3 末端の7塩基の配列において、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチである。
- 25 (d) 塩基数が、細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせ得る数である。
  - 5. 前記規則(c)において、7塩基のうち少なくとも3塩基以上がアデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上である、請

求の範囲第4項に記載の塩基配列設計方法。

6. 設計される相同な塩基配列の塩基数が13~28である、請求の範囲第4項または第5項に記載の塩基配列設計方法。

5

- 7. 前記設計される相同な塩基配列の少なくとも80%以上の塩基が検索された塩基配列と一致するように設計する、請求の範囲第4項から第6項のいずれか一項に記載の塩基配列設計方法。
- 10 8. 検索された塩基配列の3、末端の塩基と設計される塩基配列の3、末端の塩基とが同一であり、かつ、検索された塩基配列の5、末端の塩基と設計される塩基配列の5、末端の塩基と設計される塩基配列の5、末端の塩基とが同一である、請求の範囲第4項から第7項のいずれか一項に記載の塩基配列設計方法。
- 15 9. ポリヌクレオチドの3<sup>\*</sup> 末端に、オーバーハング部位を付加する、請求の 範囲第4項から第8項のいずれか一項に記載の塩基配列設計方法。
  - 10. 2本鎖ポリヌクレオチドの作製方法であって、
- 一方の鎖が、標的遺伝子の塩基配列中に含まれる、下記(a)から(d)の規則 に従う規定配列と相同な塩基配列の3、末端にオーバーハング部を設けて形成され、

他方の鎖が、前記規定配列と相同な塩基配列と相補的な配列の3°末端にオーバーハング部を設けて形成され、

各鎖の塩基数が15~30であるように設計された2本鎖ポリヌクレオチドを合 25 成する、2本鎖ポリヌクレオチドの作製方法。

- (a) 3<sup>n</sup>末端の塩基が、アデニン、チミンまたはウラシルである。
- (b) 5 末端の塩基が、グアニンまたはシトシンである。
- (c) 3 末端の7塩基の配列において、アデニン、チミンおよびウラシルから

なる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチである。

(d) 塩基数が、細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせ得る数である。

117

- 11. RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列中から下記(a)から(d)の規則に従う塩基数13~28の配列部位を検索し、一方の鎖が、標的遺伝子の塩基配列中に含まれる、下記(a)から(d)の規則に従う規定配列と相同な塩基配列の3、末端にオーバーハング部を設けて形成され、他方の鎖が、前記規定配列と相同な塩基配列と相補的な配列の3、末端にオーバーハング部を設けて形成され、各鎖の塩基数が15~30であるように合成された、2本鎖ポリヌクレオチド10。
  - (a) 3'末端の塩基が、アデニン、チミンまたはウラシルである。
  - (b) 5 末端の塩基が、グアニンまたはシトシンである。
  - (c) 3 末端の7塩基の配列において、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチである。
- 15 (d)塩基数が、細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせ得る数である。
  - 12. RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列中から下記(a)から(d)の規則に従う塩基数13~28の配列部位を検索する工程と、
- 一方の鎖が、標的遺伝子の塩基配列中に含まれる、下記(a)から(d)の規則に従う規定配列と相同な塩基配列の3、末端にオーバーハング部を設けて形成され、他方の鎖が、前記規定配列と相同な塩基配列と相補的な配列の3、末端にオーバーハング部を設けて形成され、各鎖の塩基数が15~30であるように設計された2本鎖ポリヌクレオチドを合成する工程と、

合成された2本鎖ポリヌクレオチドを、発現を抑制しようとする標的遺伝子の発 現系に導入して標的遺伝子の発現を抑制する工程と、

を含む、遺伝子発現抑制方法。

25

- (a) 3'末端の塩基が、アデニン、チミンまたはウラシルである。
- (b) 5<sup>n</sup>末端の塩基が、グアニンまたはシトシンである。

10

20

- (c) 3 末端の7塩基の配列において、アデニン、チミンおよびウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の塩基がリッチである。
- (d) 塩基数が、細胞毒性を生じさせずにRNA干渉を生じさせ得る数である。
- 5 13. RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を取得して、上記塩基配列情報 の予め定めた塩基数の配列部位である部分塩基配列情報を作成する部分塩基配列 作成手段と、

上記部分塩基配列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情報の3<sup>\*</sup> 末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであるか否かを判定する3<sup>\*</sup> 末端塩基判定手段と、

上記部分塩基配列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情報の5°末端の上記塩基がグアニン、または、シトシンであるか否かを判定する5°末端塩基判定手段と、

上記部分塩基配列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情報の上記3°末 端の7塩基からなる上記塩基配列情報が、上記アデニン、上記チミン、および、 上記ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の上記塩基がリッチな 上記塩基配列情報であるか否かを判定する特定塩基含有判定手段と、

上記3 末端塩基判定手段、上記5 末端塩基判定手段、および、上記特定塩基含有判定手段にて判定された結果に基づいて、上記部分塩基配列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情報から上記標的遺伝子に特異的に上記RNA干渉を生じさせる規定配列情報を選択する規定配列選択手段と、

を備えたことを特徴とする塩基配列処理装置。

- 14. 上記部分塩基配列作成手段は、
- 上記塩基配列情報の上記標的遺伝子のコード領域、または、転写領域に対応する部位から、上記予め定めた上記塩基数の上記部分塩基配列情報を作成する領域 指定塩基配列作成手段、

をさらに備えたことを特徴とする請求の範囲第13項に記載の塩基配列処理装

置。

15. 上記部分塩基配列作成手段は、

異なる生物に由来する複数の上記塩基配列情報の間で共通する、上記予め定めた上記塩基数の上記部分塩基配列情報を作成する共通塩基配列作成手段、

をさらに備えたことを特徴とする請求の範囲第13項または第14項に記載の 塩基配列処理装置。

- 16. 上記リッチな上記塩基配列情報は、
- 10 上記7塩基からなる上記塩基配列情報が、上記アデニン、上記チミン、および、上記ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の上記塩基が少なくとも3塩基以上含まれる上記塩基配列情報であること、

を特徴とする請求の範囲第13項から第15項のいずれか一つに記載の塩基配列処理装置。

15

5

17. 上記予め定めた上記塩基数は、13~28であること、

を特徴とする請求の範囲第13項から第16項のいずれか一つに記載の塩基配列処理装置。

20 18. 上記部分塩基配列作成手段は、

オーバーハング部位を含む上記部分塩基配列情報を作成するオーバーハング部 位含有塩基配列作成手段、

をさらに備えたことを特徴とする請求の範囲第13項から第17項のいずれか 一つに記載の塩基配列処理装置。

25

19. 上記規定配列情報の少なくとも一方の末端に上記オーバーハング部位を付加するオーバーハング部位付加手段、

を備えたことを特徴とする請求の範囲第13項から第17項のいずれか一つに

記載の塩基配列処理装置。

20. 上記オーバーハング部位の塩基数は、2であること、

を特徴とする請求の範囲第18項または第19項に記載の塩基配列処理装置。

5

10

21. 上記規定配列情報と同一または類似の上記塩基配列情報を他の上記塩基配列情報から検索する同一類似塩基配列検索手段と、

上記同一類似塩基配列検索手段にて検索された上記同一または上記類似の上記塩基配列情報に基づいて、上記規定配列情報が上記標的遺伝子とは無関係の遺伝子を標的にするか否かを評価する無関係遺伝子標的評価手段と、

を備えたことを特徴とする請求の範囲第13項から第20項のいずれか一つに 記載の塩基配列処理装置。

- 22. 上記無関係遺伝子標的評価手段は、
- 上記同一類似塩基配列検索手段にて検索された上記同一または上記類似の上記塩基配列情報のうち上記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子の上記塩基配列情報の総数、および、上記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子の上記塩基配列情報に付された同一類似の度合いを示す値に基づいて、上記同一類似の度合いを示す値の逆数の総和を算出する総和算出手段と、
- 20 上記総和算出手段にて算出された上記総和に基づいて、上記規定配列情報が上 記標的遺伝子とは無関係の上記遺伝子を標的にするか否かを評価する総和基準標 的評価手段と、

をさらに備えたことを特徴とする請求の範囲第21項に記載の塩基配列処理装 置。

25

23. RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を取得して、上記塩基配列情報 の予め定めた塩基数の配列部位である部分塩基配列情報を作成する部分塩基配列 作成工程と、 上記部分塩基配列作成工程にて作成された上記部分塩基配列情報の3<sup>2</sup>末端の塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであるか否かを判定する3<sup>2</sup>末端塩基判定工程と、

上記部分塩基配列作成工程にて作成された上記部分塩基配列情報の5°末端の上記塩基がグアニン、または、シトシンであるか否かを判定する5°末端塩基判定工程と、

上記部分塩基配列作成工程にて作成された上記部分塩基配列情報の上記3<sup>\*</sup>末端の7塩基からなる上記塩基配列情報が、上記アデニン、上記チミン、および、上記ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の上記塩基がリッチな上記塩基配列情報であるか否かを判定する特定塩基含有判定工程と、

- 上記3 末端塩基判定工程、上記5 末端塩基判定工程、および、上記特定塩基含有判定工程にて判定された結果に基づいて、上記部分塩基配列作成工程にて作成された上記部分塩基配列情報から上記標的遺伝子に特異的に上記RNA干渉を生じさせる規定配列情報を選択する規定配列選択工程と、
- 15 を含む塩基配列処理方法をコンピュータに実行させることを特徴とするプログラム。
  - 24. 上記請求の範囲第23項に記載されたプログラムを記録したことを特徴とするコンピュータ読み取り可能な記録媒体。

20

10

25. RNA干渉の標的遺伝子の塩基配列情報を処理する塩基配列処理装置と 、クライアント装置とをネットワークを介して通信可能に接続された塩基配列処 理システムにおいて、

上記クライアント装置は、

25 上記標的遺伝子の名称または上記塩基配列情報を上記塩基配列処理装置に送信 する塩基配列送信手段と、

上記塩基配列処理装置より送信された、上記標的遺伝子に特異的に上記RNA 干渉を生じさせる規定配列情報を取得する規定配列取得手段と、 を備え、

5

15

20

上記塩基配列処理装置は、

上記クライアント装置より送信された上記標的遺伝子の名称に対応する塩基配列情報または上記クライアント装置より送信された上記塩基配列情報を取得して、上記塩基配列情報の予め定めた塩基数の配列部位である部分塩基配列情報を作成する部分塩基配列作成手段と、

上記部分塩基配列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情報の3,末端の 塩基がアデニン、チミン、または、ウラシルであるか否かを判定する3,末端塩 基判定手段と、

10 上記部分塩基配列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情報の5°末端の 上記塩基がグアニン、または、シトシンであるか否かを判定する5°末端塩基判 定手段と、

上記部分塩基配列作成手段にて作成された上記部分塩基配列情報の上記3°末端の7塩基からなる上記塩基配列情報が、上記アデニン、上記チミン、および、上記ウラシルからなる群より選ばれる1種または2種以上の上記塩基がリッチな上記塩基配列情報であるか否かを判定する特定塩基含有判定手段と、

上記3<sup>2</sup> 末端塩基判定手段、上記5<sup>2</sup> 末端塩基判定手段、および、上記特定塩 基含有判定手段にて判定された結果に基づいて、上記部分塩基配列作成手段にて 作成された上記部分塩基配列情報から上記規定配列情報を選択する規定配列選択 手段と、

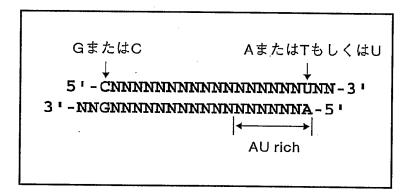
上記規定配列選択手段にて選択された上記規定配列情報を上記クライアント装置に送信する規定配列送信手段と、

を備えたことを特徴とする塩基配列処理システム。

第 | 図

GACACGGACGTCAACACCTGACCCGCTTCGTCATGGAGGGGGGCAGGAAGGCCCGCG GAAACGGATATCAG<mark>CACCCTGACCCGCTTTCGTCATGG</mark>AGCAGGCAGGAAGGCTCAGG \* \*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\* \*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\*\* 5'-cccugacccgcuucgucauge-3 \*\*\* \*\*\*\*\* \*\* ヒト配列 マウス配列

# 第2図



## 第3図

	NM_000507: <i>Homo sapiens</i> fructose-1,6-bisphosphatase 1 ( <i>FBP1</i> ) NM_019395: <i>Mus musculus</i> fructose bisphosphatase 1 ( <i>Fbp1</i> )	•
им_000507 им_019395	1 ATGCTGACCAGGCGCCCTTCGACACGGACGTCAACACCCTGACCGGCTTCGTCATGGAG 1 ATGCCGAACCATGCGCCCTTCGAAACGGATATCAGCAGCTGACCCGCTTCGTCATGGAG ***** *****************************	60 60
_	61 GAGGGCAGGAAGGCCCGCGGCACGGGGGAGTTGACCCAGCTGCTCAACTCGCTCTGCACA 61 CAGGGCAGGAAGGCTCAGGGCACGGGGGAGTTGACCCAGCTGCTGAATTCGCTCTGCACC **********************************	120 120
_	▼ intron  1. GCAGTCAAAGCCATCTCTTCGGCGGTGCGCAAGGCGGGCATCGCGCACCTCTATGGCATT  2.1 GCGATCAAAGCCATCTCGTCTGCGGTGCGCCAGGCGGGCATCGCACGCTCTATGGTATC  2.2 **********************************	180 180
	81 GCTGGTTCTACCAACGTGACAGGTGATCAAGTTAAGAAGCTGGACGTCCTCTCCAACGAC 81 GCTGGCTCAACCAATGTGACTGGGGATCAAGTAAAGAAGCTGGACATACTTTCCAATGAC ***** ** ***** ***** ******** ********	240 240
	11 CTGGTTATGAACATGTTAAAGTCATCCTTTGCCACGTGTGTTCTCGTGTCAGAAGAAGAT 11 CTGGTGATCAATATGCTGAAGTCGTCCTACGCTACCTGTGTTCTTGTGTCTGAAGAAAAC ***** ** ** *** * **** ***** ***** *****	300 300
i –	▼ intron  1 AAACACGCCATCATAGTGGAACCGGAGAAAAGGGGTAAATATGTGGTCTGTTTTGATCCC  1 ACAAATGCCATCATAATCGAACCTGAGAAGAGGGGCAAATATGTTGTCTGTTTCGATCCC  2 * * * * * * * * * * * * * * * * * *	360 360
	61 CTTGATGGATCTTCCAACATCGATTGCCTTGTGTCCGTTGGAACCATTTTTGGCATCTAT 61 CTTGATGGCTCATCCAACATTGACTGCCTTGTGTCCATCGGAACCATTTTTGGCATTTAC ******** ** ******** * **************	420 420
	▼ infron 21 AGAAAGAAATCAACTGATGAGCCTTCTGAGAAGGATGCTCTGCAACCAGGCCGGAACCTG 21 AGAAAGAAAAGTACTGATGAGCCTTCTGAGAAGGATGCTCTGCAGCCCGGCCGG	480 480
1 —	81 GTGGCAGCCGGCTACGCACTGTATGGCAGTGCCACCATGCTGGTCCTTGCCATGGACTGT 81 GTGGCAGCCGGGTATGCGCTCTATGGCAGTGCCACCATGTTGGTCCTTGCCATGGATTGT *********** ** ** ** **************	540 540
1	▼ intron  1. GGGGTCAACTGCTTCATGCTGGACCCGGCCATCGGGGAGTTCATTTTGGTGGACAAGGAT  1. GGTGTCAACTGCTTCATGCTGGACCCGTCCATTGGAGAATTCATTATGGTGGACAGGGAC  1. ***********************************	600 600
-	D1 GTGAAGATAAAAAAGGAAAGGTAAAATCTACAGCCTTAACGAGGGCTACGCCAGGGACTTT D1 GTGAAGATGAAGAAAGGTAACATCTACAGCCTTAATGAGGGTTATGCCAAGGACTTT ******* ** ******** ********* ********	660 660
NM_000507 66 NM_019395 66	Finton 61 GACCCTGCCGTCACTGAGTACATCCAGAGGAAGAAGTTCCCCCCAGATAATTCAGCTCCT 61 GACCCTGCCATCAATGAGTATCTCCAGAGGAAAAAGTTCCCTCCGGATGGTTCAGCCCCC ********* *** ******* ******** ******* ****	720 720
	21 TATGGGGCCCGGTATGTGGGCTCCATGGTGGCTGATGTTCATCGCACTCTGGTCTACGGA 21 TATGGTGCCCGGTATGTGGGGTCCATGGTGGTGATATTCACCGCACTCTGGTATATGGA ***** *********** *********** ********	780 780
	→ introl B1 GGGATATTTCTGTACCCCGCTAACAAGAAGAGCCCCAATGGAAAGCTGAGACTGCTGTAC B1 GGGATCTTTTATACCCCGCCAACAAGAAAAGCCCCAAGTGGAAAGCTGCGGCTGCTGTAT  ***** *** * ******** ****** * ********	840 840
	41 GAATGCAACCCCATGGCCTACGTCATGGAGAAGGCTGGGGAATGGCCACCACTGGGAAG 41 GAGTGCAACCCCATAGCTTATGTCATGGAGAAGGCCGGTGGGCTCGCCACCACGGGGGAC ** ******** ** ** ********* ** * * *****	900 900
	01 GAGGCCGTGTTAGACGTCATTCCCACAGACATTCACCAGAGGGCGCCGGTGATCTTGGGA 01 AAAGATATATTAGACATCGTTCCCACCGAGATCCACCAGAAGGCACCAGTCGTCATGGGG * * * ****** ** ******* ** ******* ** *	960 960
_		1017 1017

#### 第4図

NM\_000507: 36 caccetgaccegettegteatgg
NM\_000507: 37 accetgaccegettegteatgga
NM\_000507: 38 ceetgaccegettegteatggag
NM\_000507:433 actgatgageettetgagaagga
NM\_000507:434 etgatgageettetgagaaggat
NM\_000507:435 tgatgageettetgagaaggatg
NM\_000507:436 gatgageettetgagaaggatge
NM\_000507:437 atgageettetgagaaggatget
NM\_000507:438 tgageettetgagaaggatget
NM\_000507:439 gageettetgagaaggatgetet
NM\_000507:440 ageettetgagaaggatgetet
NM\_000507:441 geettetgagaaggatgetetge
NM\_000507:442 eettetgagaaggatgetetge
NM\_000507:544 gteaactgetteatgetggaeee
NM\_000507:545 teaactgetteatgetggaeeeg

#### 第5図

NM 000507: 36 caccetgaceegettegteatgg 1 1 4 NM 000507: 37 accetgaccegettegteatgga 0 1 NM 000507: 38 ccctgacccgcttcgtcatggag 0 NM 000507:433 actgatgagccttctgagaagga 0 0 NM 000507:434 ctgatgagccttctgagaaggat 0 1 0 NM 000507:435 tgatgagccttctgagaaggatg 1 0 NM 000507:436 gatgagccttctgagaaggatgc 1 0 NM 000507:437 atgagccttctgagaaggatgct 0 1 0 NM 000507:438 tgagccttctgagaaggatgctc 0 0 0 0 NM 000507:439 qaqccttctqaqaaqqatqctct 1 NM 000507:440 agccttctgagaaggatgctctg 0 0 NM 000507:441 gccttctgagaaggatgctctgc 1 NM 000507:442 ccttctgagaaggatgctctgca 0 NM 000507:544 gtcaactgcttcatgctggaccc 0 NM 000507:545 tcaactgcttcatgctggacccg 0

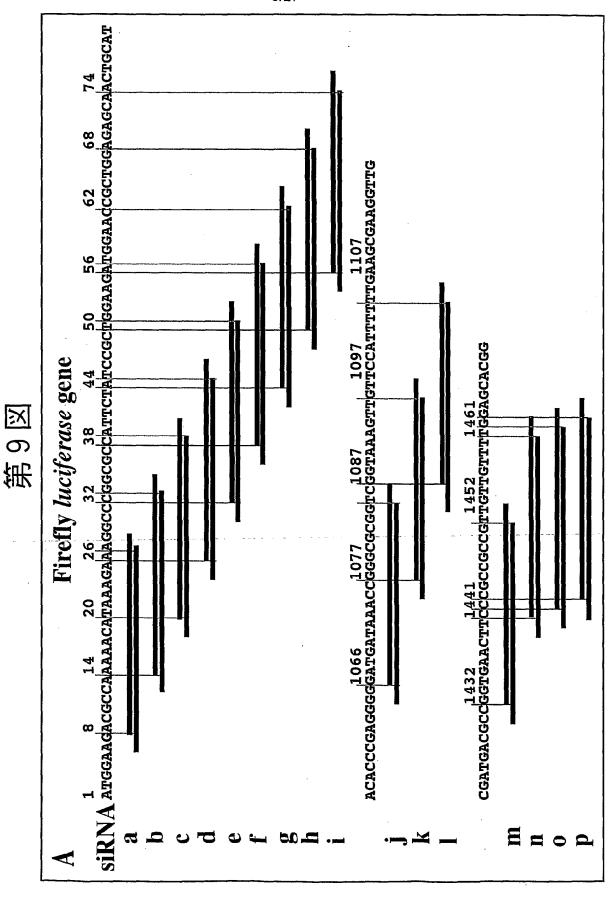
# 新6図

Sequences producing significant alignments:	Score (bits)	e E s) Value	<u>.                                    </u>
ref NM 019395.1 Mus musculus fructose bisphosphatase 1 (Fbp1), ref NM 000507.2 Homo sapiens fructose-1,6-bisphosphatase 1 (Fbp ref NM 015820.1 Homo sapiens fructose-1,6-bisphosphatase 2 (Fbp ref NM 010884.1 Homo sapiens fructose-1,6-bisphosphatase 2 (Fbp ref NM 010884.1 Mus musculus N-myc downstream regulated 1 (Ndr1 ref NM 025405.1 Mus musculus RIKEN cDNA 1110033J19 gene (111001 ref NM 022098.1 Mus musculus RIKEN cDNA 1110013E13 gene (111001 ref NM 012258.2 Homo sapiens hairy/enhancer-of-split related wi ref NM 012218.1 Homo sapiens Lipocalin-interacting membrane rec ref NM 012218.1 Homo sapiens interleukin enhancer binding facto ref NM 000875.2 Homo sapiens interleukin enhancer binding facto ref NM 000875.2 Homo sapiens insulin-like growth factor 1 recep ref NM 001188.1 Homo sapiens sinsulin-like growth factor 1 recep		46 9e-06 30 0.52 30 0.52 28 2.0 28 2.0 26 8.1 26 8.1	9 9

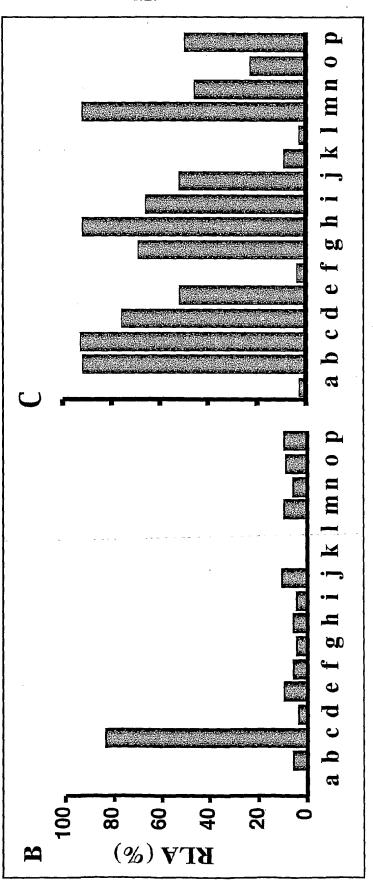
1
nroducing significant alignments
riiga giir
Mus musculus
Homo sapiens
Mus musculus
Homo sapiens
Homo sapiens
Mus musculus
Mus musculus
Mus musculus
Mus musculus
Homo sapiens
Homo saplens
Homo sapiens
Mus musculus
Homo sapiens
Homo sapiens

#### 第8図

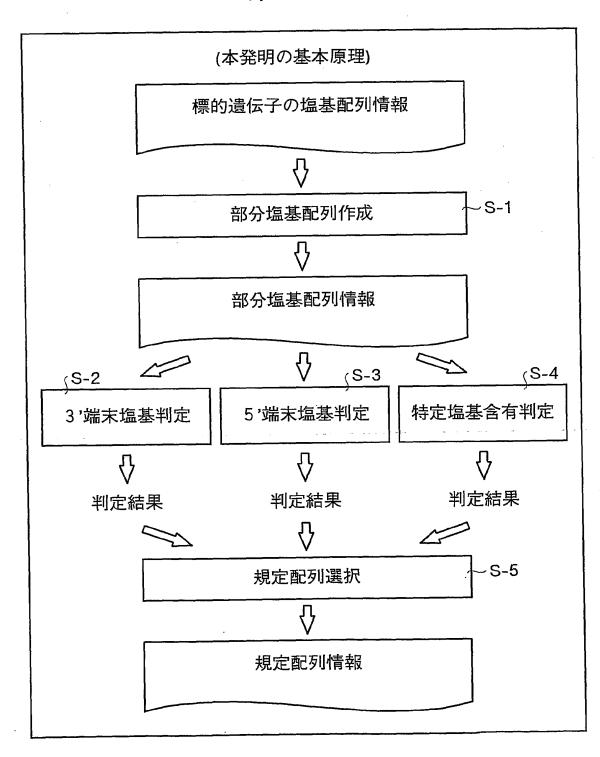
```
NM_000507: 36 caccetgaccegettegteatgg 1 1 4 4 59
NM_000507: 37 accetgaccegettegteatgga 0 1 3 0 -
NM_000507: 38 cectgaccegettegteatggag 0 1 3 0 -
NM_000507:433 actgatgageettetgagaagga 0 0 4 0 -
NM_000507:434 etgatgageettetgagaaggat 0 1 3 0 -
NM_000507:435 tgatgageettetgagaaggatg 1 0 4 0 -
NM_000507:436 gatgageettetgagaaggatge 1 0 4 0 -
NM_000507:437 atgageettetgagaaggatge 1 0 4 0 -
NM_000507:438 tgageettetgagaaggatget 0 1 4 0 -
NM_000507:438 tgageettetgagaaggatget 0 1 3 0 -
NM_000507:440 ageettetgagaaggatgete 1 1 3 0 -
NM_000507:441 geettetgagaaggatgetetg 0 1 3 0 -
NM_000507:442 ecttetgagaaggatgetetge 1 1 4 4 1708
NM_000507:544 gteaactgetteatgetggacee 0 1 2 0 -
NM_000507:545 teaactgetteatgetggacee 0 1 2 0 -
```

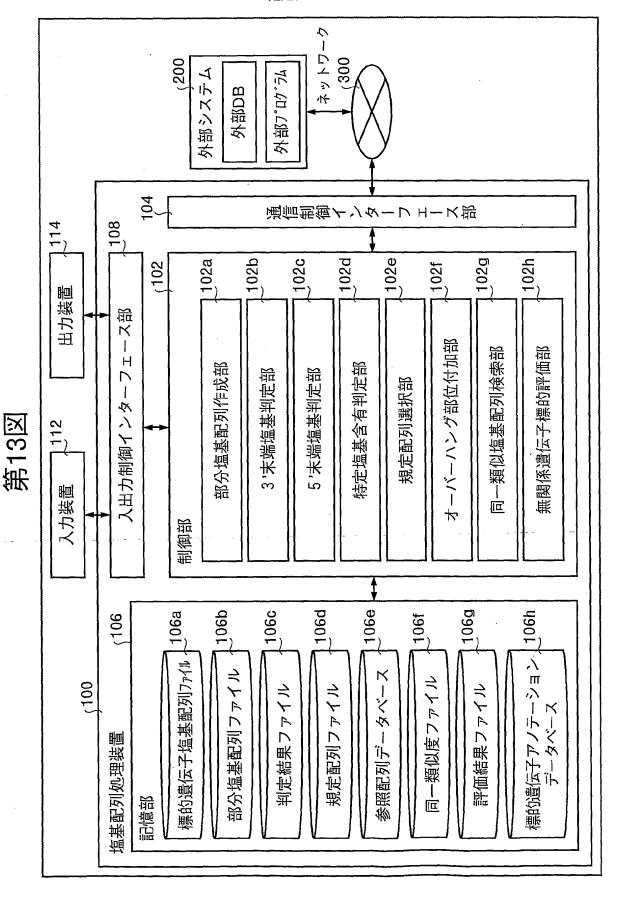


第10図

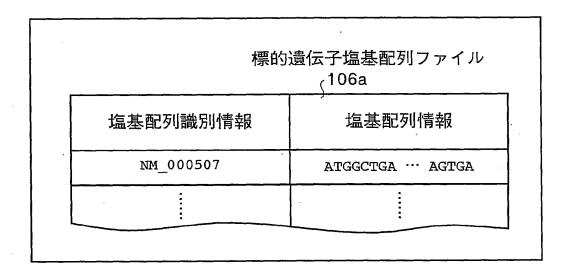


## 第12図





# 第14図



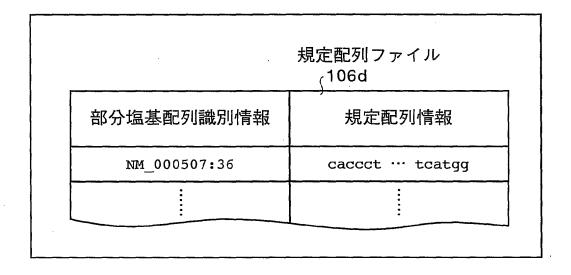
# 第15図

部分塩基配列ファイル <sub>〈</sub> 106b			
部分塩基配列 識別情報	部分塩基配列情報	オーバーハング部位 含有情報	
NM_000507:36	caccct tcatgg	含有	

第16図

<del></del>			
	総合判定結果	7	
	特定塩基含有判定 結果	Ъ	
アイル	5 宋端塩基判定 結果	1	
判定結果ファイル (106c)	3 宋端塩基判定結果	1	
	部分塩基配列識別情報	NM_000507:36	

# 第17図



## 第18図

	参照	配列データベース <sub>(</sub> 106e	
参照配列識別	<b>川情報</b>	参照塩基配列情報	
ref NM_0158	20.1	caccct … gcatgg	

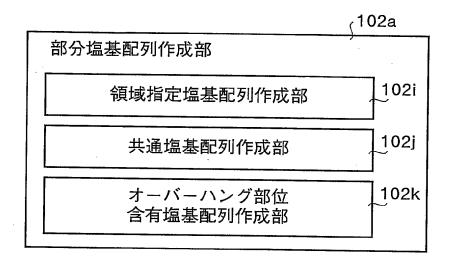
# 第19図

同一類似度ファイル <sub>(</sub> 106f			
部分塩基配列 識別情報	規定識別情報	同一類似度	
NM 000507:36	ref NM_015820.1	0.52	
000307130	ref NM_003837.1	0.52	
	,		

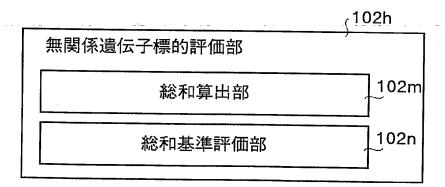
# 第20図

	評価結果ファイル <sub>(</sub> 106g			
部分塩基配列 識別情報	参照配列識別情報	評価情報		
NM_000507:36	5.9	非標的		
NM_000507:441	170.8	標的		

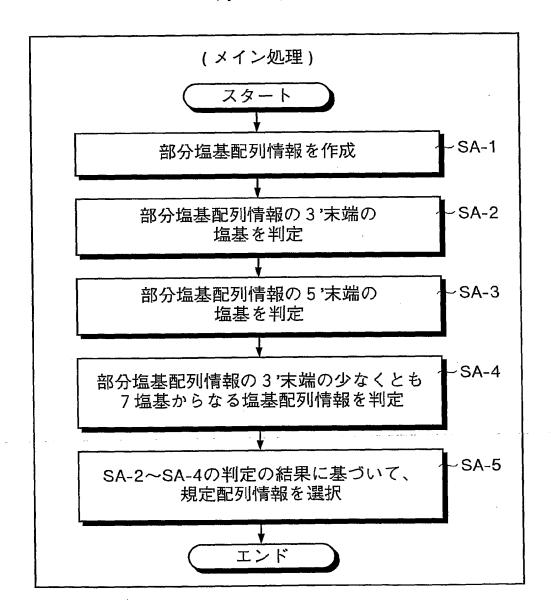
# 第21図



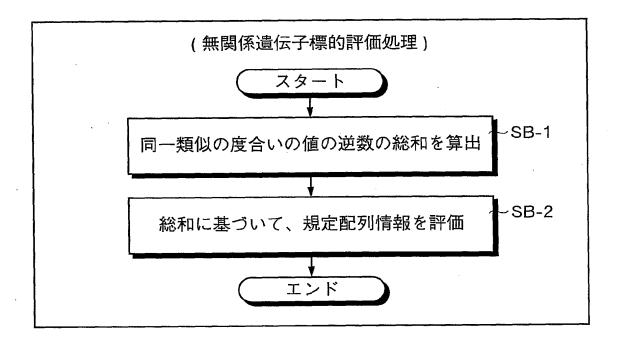
## 第22図



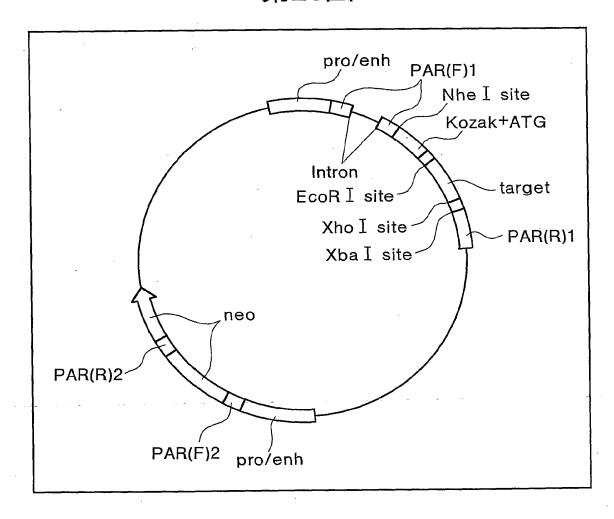
#### 第23図



#### 第24図

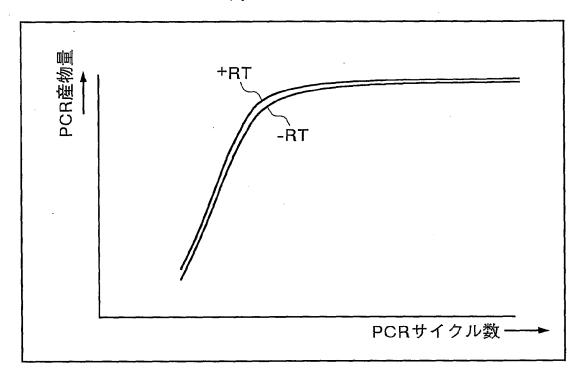


# 第25図

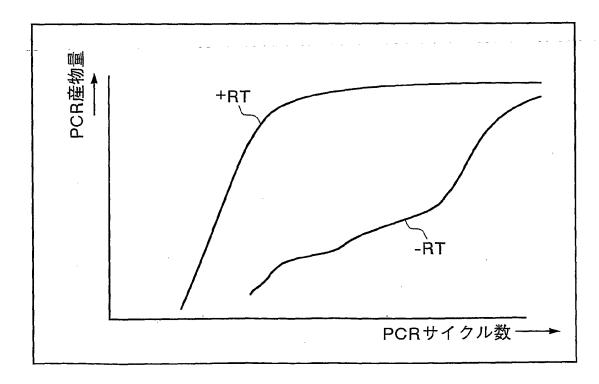


21/27

# 第26図



第27図



22/27

## 第28図

5', 3'	-	aggauguucggcggcccgggc	-3'
	_	cguccuacaagccgccgggcc	-5'

## 第29図

guacgucagcaauaugaaagu -3'ugcaugcagucguuauacuuu -5'

WO 2004/048566

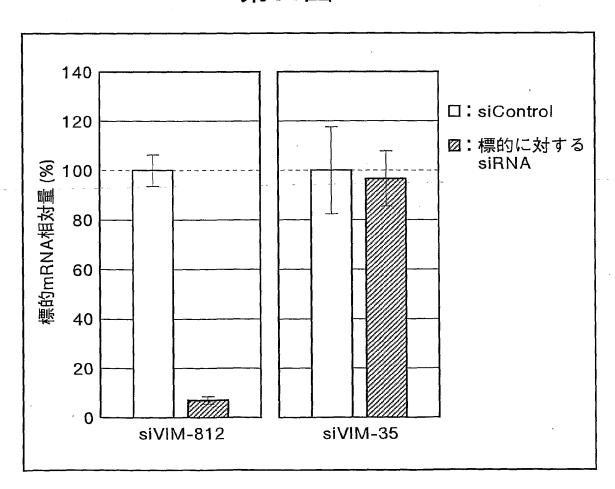
23/27

## 第30図

5'- CAUUCUAUCCGCUGGAAGAUG -3'

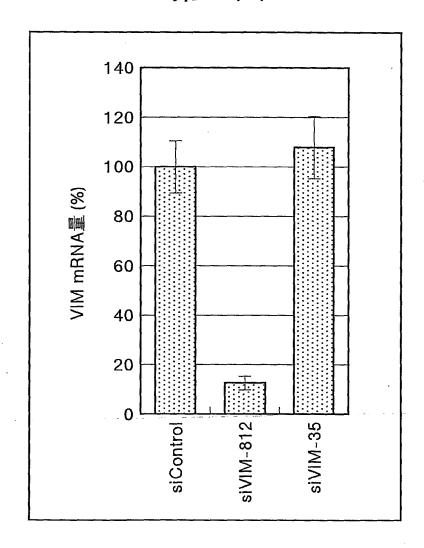
3'- CGGUAAGAUAGGCGACCUUCU -5'

## 第31図



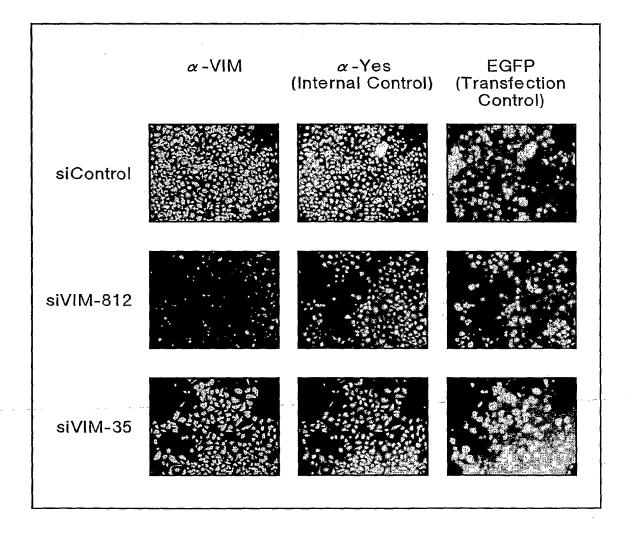
24/27

第32図



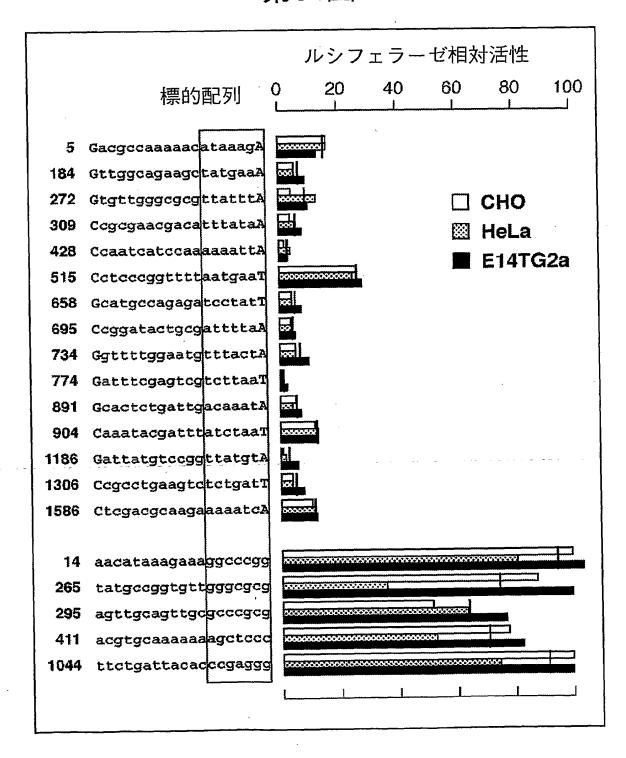
25/27

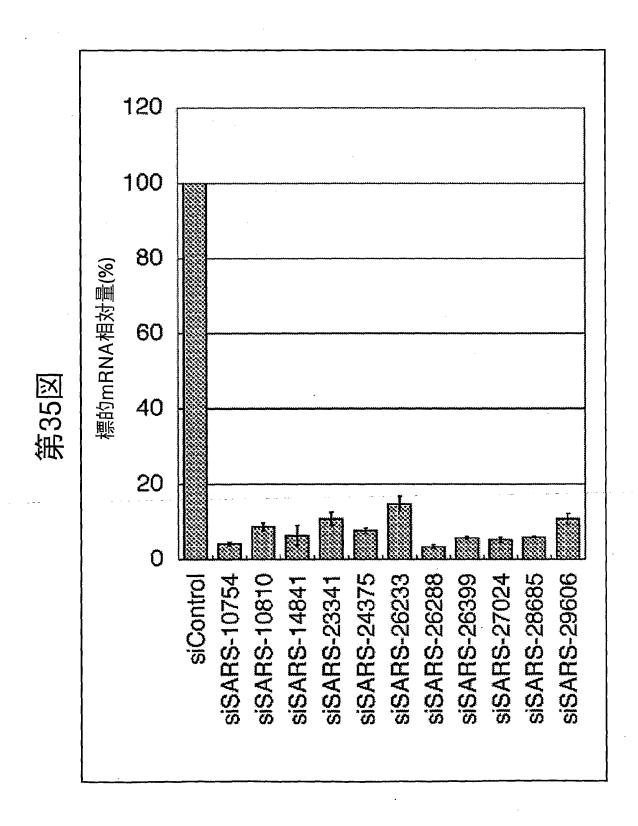
#### 第33図



26/27

#### 第34図





#### 1/269

#### SEQUENCE LISTING

<110> SAIGO, Kaoru; TEI, Kumiko; NAITO, Yuki; NATORI, Yukikazu

<120> RNA干渉の標的塩基配列検索方法、RNA干渉を生じさせるポリヌクレオチドの塩基配列設計方法、2本鎖ポリヌクレオチドの作製方法、遺伝子の発現抑制方法、塩基配列処理装置、塩基配列処理方法をコンピュータに実行させるプログラム、記録媒体、および、塩基配列処理システム

<130> PSSA-15641

<150> JP 2002-340053

<151> 2002-11-22

<160> 892

<210> 1

<211> 37

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Inventor: UI-TEI, Kumiko

<220>

<223> Inventor: NAITO, Yuki

<220>

<223> Inventor: SAIGO, Kaoru

⟨220⟩

<223> oligomer including Nhe I site, EcoRI site and Xho I site

<400> 1

gctagccacc atggaattca cgcgtctcga gtctaga

37

⟨210⟩ 2

(211) 18

<212> DNA

<213> Artificial

2/269

<220>

<223> PCR primer T

<400> 2

aggcactggg caggtgtc 18

<210> 3

⟨211⟩ 24

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> PCR primer T

⟨400⟩ 3

tgctcgaagc attaaccctc acta

⟨210⟩ 4

⟨211⟩ 21

<212> DNA

<213> Artificial

⟨220⟩

<223> PCR primer C

<400> 4

atcaggatga tctggacgaa g 21

⟨210⟩ 5

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> PCR primer C

WO 2004/048566	PCT/JP2003/014893

3/269

ctcttcagca atatcacggg t 21

⟨210⟩ 6

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> target sequence VIM35

<400> 6

gaattcgcag gatgttcggc ggcccgggcc tcgag 35

<210> 7

<211> 35

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

 $\langle 223 \rangle$  target sequence VIM812

<400> 7

gaattcacgt acgtcagcaa tatgaaagtc tcgag

35

<210> 8

⟨211⟩ 21

<212> RNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA as evaluation subject; siVIM35

<400> 8

aggauguucg gcggcccggg c 21

<210> 9

4/269

⟨211⟩ 21

<212> RNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA as evaluation subject; siVIM812

<400> 9

guacgucagc aauaugaaag u

21

<210> 10

⟨211⟩ 21

<212> RNA

<213> Artificial

<220>

<223> Control siRNA; siControl

<400> 10

cauucuaucc gcuggaagau g

21

⟨210⟩ 11

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> PCR primer VIM-F3-84

<400> 11

gagctacgtg actacgtcca

20

⟨210⟩ 12

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial

5/269

<220>

<223> PCR primer VIM-R3-274

<400> 12

gttcttgaac tcggtgttga t

21

⟨210⟩ 13

⟨211⟩ 20

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> PCR primer ACTB-F2-481

<400> 13

cacactgtgc ccatctacga

20

<210> 14

<211> 20

<212> DNA

(213) Artificial

<220>

<223> PCR primer ACTB-R2-664

<400> 14

gccatctctt gctcgaagtc

20

⟨210⟩ 15

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

6/269

gacgccaaaa acataaaga 19

<210> 16
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>
<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

<400> 16
gttggcagaa gctatgaaa 19

<210> 17
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<210> 17
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

<400> 17

gtgttgggcg cgttattta 19

⟨210⟩ 18

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

⟨400⟩ 18

ccgcgaacga catttataa 19

⟨210⟩ 19

7/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

⟨400⟩ 19

ccaatcatcc aaaaaatta

19

<210> 20

(211) 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

⟨400⟩ 20

cctcccggtt ttaatgaat

19

<210> 21

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

<400> 21

gcatgccaga gatcctatt

19

⟨210⟩ 22

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

8/269

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

<400> 22

ccggatactg cgattttaa 19

⟨210⟩ 23

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

⟨400⟩ 23

ggttttggaa tgtttacta 19

⟨210⟩ 24

(211) 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

<400> 24

gatttcgagt cgtcttaat 19

<210> 25

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

9/269

$9 \angle 269$		
gcactctgat tgacaaata	19	
<210> 26		
<210 20 <211 19		
<212> DNA		
<213> Artificial		
<220>		
<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.		
<400> 26		
caaatacgat ttatctaat		
<210> 27		
<211> 19		
<212> DNA		
<213> Artificial		
⟨220⟩		
<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.		
<400> 27		
gattatgtcc ggttatgta	19	
gattatgtee ggttatgta	13	
<210> 28		
<211> 19		
<212> DNA		
<213> Artificial		
(000)		
(220)		
<pre>&lt;223&gt; siRNA target sequence for Firefly luciferase.</pre>		
<400> 28		
ccgcctgaag tctctgatt	19	

⟨210⟩ 29

10/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

<400> 29

ctcgacgcaa gaaaaatca

19

<210> 30

(211) 19

<212> DNA

(213) Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

<400> 30

aacataaaga aaggcccgg

19

<210> 31

〈211〉 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

<400> 31

tatgccggtg ttgggcgcg

19

⟨210⟩ 32

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

11/269

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

⟨400⟩ 32

agttgcagtt gcgcccgcg

19

⟨210⟩ 33

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

<400> 33

acgtgcaaaa aaagctccc

19

⟨210⟩ 34

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Firefly luciferase.

<400> 34

ttctgattac acccgaggg

19

⟨210⟩ 35

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> Control siRNA; siControl

12/269

gggcgcggtc ggtaaagtt 19

⟨210⟩ 36

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for SARS coronavirus.

<400> 36

ggaattgccg tcttagata 19

<210> 37

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for SARS coronavirus.

<400> 37

gaatggtcgt actatectt 19

<210> 38

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for SARS coronavirus.

⟨400⟩ 38

ccaagtaatc gttaacaat 19

⟨210⟩ 39

13/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for SARS coronavirus.

⟨400⟩ 39

gcttggcgca tatattcta

19

⟨210⟩ 40

⟨211⟩ 19

<212> DNA

(213) Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for SARS coronavirus.

<400> 40

cctttcgcga cttgataaa

19

<210> 41

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for SARS coronavirus.

<400> 41

gtgcgtactg ctgcaatat

19

<210> 42

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

14/269

<220>

<223> siRNA target sequence for SARS coronavirus.

<400> 42

ctactcgcgt gttaaaaat

19

⟨210⟩ 43

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for SARS coronavirus.

⟨400⟩ 43

gcagacaacg gtactatta

19

<210> 44

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for SARS coronavirus.

<400> 44

ccggtagcaa cgacaatat

19

<210> 45

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for SARS coronavirus.

15/269

19 cgtagtcgcg gtaattcaa <210> 46 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> siRNA target sequence for SARS coronavirus. ⟨400⟩ 46 19 gatcgagggt acagtgaat <210> 47 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for FGFR1 (NM\_000604). <400> 47 19 gtagcaacgt ggagttcat ⟨210⟩ 48 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for FGFR1 (NM\_000604). ⟨400⟩ 48 19 ggtagcaacg tggagttca

<210> 49

16/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR1 (NM\_000604).

<400> 49

caacgtggag ttcatgtgt

19

⟨210⟩ 50

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Ilomo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR1 (NM\_000604).

<400> 50

ggtgaatggg agcaagatt

19

<210> 51

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR1 (NM\_000604).

<400> 51

gcaagattgg cccagacaa

19

⟨210⟩ 52

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

17/269

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR1 (NM\_000604).

⟨400⟩ 52

gagttcatgt gtaaggtgt

19

<210> 53

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR2 (NM\_000141).

<400> 53

gaggetacaa ggtacgaaa

19

<210> 54

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR2 (NM\_000141).

<400> 54

gctacaaggt acgaaacca

19

⟨210⟩ 55

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for FGFR2 (NM\_000141).

⟨400⟩ 55

18/269

ctggagcctc attatggaa 19

⟨210⟩ 56

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR2 (NM\_000141).

<400> 56

gaaaaacggg aaggagttt 19

<210> 57

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR2 (NM\_000141).

<400> 57

gcaggagcat cgcattgga 19

<210> 58

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR2 (NM\_000141).

<400> 58

ccttcagttt agttgagga 19

⟨210⟩ 59

19/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{<}223\texttt{>}}$  siRNA target sequence for FGFR2 (NM\_000141).

<400> 59

cttcagttta gttgaggat

19

⟨210⟩ 60

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR3 (NM\_000142).

<400> 60

gacggcacac cctacgtta

19

⟨210⟩ 61

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR3 (NM\_000142).

<400> 61

cacaacctcg actactaca

19

⟨210⟩ 62

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

20/269

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR3 (NM\_000142).

<400> 62

gcacacacga cctgtacat

19

⟨210⟩ 63

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR3 (NM\_000142).

<400> 63

cctgcgtcgt ggagaacaa

19

<210> 64

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR3 (NM\_000142).

<400> 64

cacacgacct gtacatgat

19

<210> 65

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FGFR3 (NM\_000142).

21/269

19 gagttccact gcaaggtgt <210> 66 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ERBB2 (NM\_004448). <400> 66 19 ggagaccege tgaacaata ⟨210⟩ 67 (211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ERBB2 (NM\_004448). <400> 67 19 ccttcgacaa cctctatta <210> 68 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ERBB2 (NM\_004448). <400> 68 19 gggctggctc cgatgtatt

<210> 69

22/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ERBB2 (NM\_004448).

**<400>** 69

ggctggctcc gatgtattt

19

<210> 70

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ERBB2 (NM\_004448).

<400> 70

ctggctccga tgtatttga

19

<210> 71

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ERBB3 (NM\_001982).

<400> 71

gtgctgggcg tatctatat

19

⟨210⟩ 72

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

23/269

<220>

<223> siRNA target sequence for ERBB3 (NM\_001982).

<400> 72

gctgggcgta tctatataa 19

<210> 73

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ERBB3 (NM\_001982).

⟨400⟩ 73

gcttgtcctg tcgaaatta 19

<210> 74

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ERBB3 (NM\_001982).

<400> 74

cttgtcctgt cgaaattat 19

⟨210⟩ 75

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for ERBB3 (NM\_001982).

24/269

19 cattegecea acetttaaa ⟨210⟩ 76 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ERBB4 (NM\_005235). <400> 76 19 ggagaattta cgcattatt <210> 77 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Ilomo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ERBB4 (NM\_005235). <400> 77 19 gctcaacttc gtattttga <210> 78 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ERBB4 (NM\_005235). ⟨400⟩ 78 19 ctcaaagata cctagttat

<210> 79

25/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ERBB4 (NM\_005235).

<400> 79

ctcaacttcg tattttgaa

19

⟨210⟩ 80

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ERBB4 (NM\_005235).

<400> 80

ctgacagtag acctaaatt

19

⟨210⟩ 81

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK1 (NM\_002227).

<400> 81

ctcagggaca gtatgattt

19

⟨210⟩ 82

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

26/269

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK1 (NM\_002227).

⟨400⟩ 82

cagaatacgc catcaataa

19

⟨210⟩ 83

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{\langle 223\rangle}}$  siRNA target sequence for JAK1 (NM\_002227).

<400> 83

gatgcggata aataatgtt

19

⟨210⟩ 84

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK1 (NM\_002227).

<400> 84

ggatgcggat aaataatgt

19

<210> 85

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{\langle 223\rangle}}\xspace$  siRNA target sequence for JAK1 (NM\_002227).

27/269

ctttcagaac cttattgaa 19

<210> 86

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK1 (NM\_002227).

⟨400⟩ 86

cagctacaag cgatatatt 19

<210> 87

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK1 (NM\_002227).

<400> 87

caattgaaac cgataagga 19

<210> 88

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK1 (NM\_002227).

<400> 88

gggttctcgg caatacgtt 19

⟨210⟩ 89

28/269

<211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK2 (NM\_004972).

<400> 89

ctggtcggcg taatctaaa

19

<210> 90

<211> 19 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK2 (NM\_004972).

<400> 90

ggtcggcgta atctaaaat

19

<210> 91

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK2 (NM\_004972).

<400> 91

gteggegtaa tetaaaatt

19

<210> 92

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

29/269

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK2 (NM\_004972).

<400> 92

ggaatttatg cgtatgatt

19

⟨210⟩ 93

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK2 (NM\_004972).

<400> 93

ctgttcgctc agacaatat

19

<210> 94

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK2 (NM\_004972).

<400> 94

ggaaacggtg gaattcagt

19

<210> 95

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK2 (NM\_004972).

30/269

ctggaaacgg tggaattca 19

⟨210⟩ 96

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK2 (NM\_004972).

<400> 96

gatttttgca accattata 19

<210> 97

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{<223>}}\xspace$  siRNA target sequence for JAK3 (NM\_000215).

<400> 97

gtcattcgtg acctcaata 19

<210> 98

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK3 (NM\_000215).

<400> 98

gacccgctag cccacaata 19

⟨210⟩ 99

31/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK3 (NM\_000215).

<400> 99

cccgctagcc cacaataca

19

⟨210⟩ 100

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK3 (NM\_000215).

<400> 100

ccatggtgca ggaatttgt

19

<210> 101

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for JAK3 (NM\_000215).

<400> 101

catgtatctg cgaaaacgt

19

<210> 102

⟨211⟩ 19

<212> DNA

32/269

<220>

<223> siRNA target sequence for TYK2 (NM\_003331).

<400> 102

gcctgaagga gtataagtt

19

⟨210⟩ 103

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TYK2 (NM\_003331).

<400> 103

cggaccctac ggttttcca

19

<210> 104

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TYK2 (NM\_003331).

<400> 104

ctatatttcc gcataaggt

19

<210> 105

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TYK2 (NM\_003331).

33/269

ccacaagege tatttgaaa 19

⟨210⟩ 106

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for TYK2 (NM\_003331).

<400> 106

cacaagcgct atttgaaaa 19

<210> 107

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TYK2 (NM\_003331).

<400> 107

gaactggcat ggcatgaat 19

<210> 108

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ZAP70 (NM\_001079).

⟨400⟩ 108

gaggccgagc gcaaacttt 19

⟨210⟩ 109

34/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ZAP70 (NM\_001079).

<400> 109

ggtacgcacc cgaatgcat

19

⟨210⟩ 110

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ZAP70 (NM\_001079).

<400> 110

gagetetgeg agttetact

19

⟨210⟩ 111

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ZAP70 (NM\_001079).

<400> 111

gacacgagcg tgtatgaga

19

⟨210⟩ 112

<211> 19

<212> DNA

35/269

<220>

<223> siRNA target sequence for ZAP70 (NM\_001079).

⟨400⟩ 112

cggcactacg ccaagatca

19

⟨210⟩ 113

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ZAP70 (NM\_001079).

⟨400⟩ 113

ggagctatgg ggtcaccat

19

<210> 114

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SRC (NM\_005417).

<400> 114

ctgttcggag gcttcaact

19

<210> 115

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SRC (NM\_005417).

36/269

ggtggcctac tactccaaa 19

⟨210⟩ 116

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{<}223\texttt{>}}\xspace$  siRNA target sequence for SRC (NM\_005417).

<400> 116

gggagtcaga gcggttact 19

⟨210⟩ 117

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{<}223\texttt{>}}\ siRNA$  target sequence for SRC (NM\_005417).

<400> 117

cagageggtt actgeteaa 19

<210> 118

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

 $\ensuremath{\texttt{\langle 223\rangle}}\xspace$  siRNA target sequence for SRC (NM\_005417).

⟨400⟩ 118

cagtgtctga cttcgacaa 19

37/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SRC (NM\_005417).

⟨400⟩ 119

cctcccgcac ccagttcaa

19

⟨210⟩ 120

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for LYN (NM\_002350).

<400> 120

cagcgacatg attaaacat 19

<210> 121

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for LYN (NM\_002350).

<400> 121

gttattaagc actacaaaa 19

⟨210⟩ 122

<211> 19

<212> DNA

38/269

<220>

<223> siRNA target sequence for LYN (NM\_002350).

<400> 122

gtatcagcga catgattaa

19

⟨210⟩ 123

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for LYN (NM\_002350).

<400> 123

ggatgggtta ctataacaa

19

<210> 124

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for LYN (NM\_002350).

<400> 124

gaagccatgg gataaagat

19

<210> 125

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for LYN (NM\_002350).

39/269

gcactacaaa attagaagt 19
<210> 126
<211> 19
<212> DNA

 $\ensuremath{\scriptsize{<220>}}$   $\ensuremath{\scriptsize{<223>}}$  siRNA target sequence for ABL1 (NM\_005157).

<213> Homo sapiens

<213> Homo sapiens

<400> 126
cactctaagc ataactaaa 19

<210> 127 <211> 19 <212> DNA

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for ABL1 (NM\_005157).

<400> 127 gagggcgtgt ggaagaaat 19

<210> 128
<211> 19
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<223> siRNA target sequence for ABL1 (NM\_005157).
<400> 128

ccgggtctta ggctataat 19

⟨210⟩ 129

40/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ABL1 (NM\_005157).

⟨400⟩ 129

gggtcttagg ctataatca

19

⟨210⟩ 130

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ABL1 (NM\_005157).

<400> 130

catctcgctg agatacgaa

19

<210> 131

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ABL1 (NM\_005157).

⟨400⟩ 131

ggccagtgga gataacact

19

⟨210⟩ 132

<211> 19

<212> DNA

41/269

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for ABL1 (NM\_005157).

⟨400⟩ 132

gcctggccta caacaagtt

19

⟨210⟩ 133

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for ABL1 (NM\_005157).

<400> 133

gtgtcccca actacgaca

19

<210> 134

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ABL2 (NM\_005158).

⟨400⟩ 134

ctcaaactcg caacaaatt

19

⟨210⟩ 135

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ABL2 (NM\_005158).

⟨400⟩ 135

42/269

cctcaaactc gcaacaaat 19

⟨210⟩ 136

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ABL2 (NM\_005158).

⟨400⟩ 136

ctaaggttta tgaacttat 19

⟨210⟩ 137

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ABL2 (NM\_005158).

<400> 137

gctcagcagt ctaatcaat 19

⟨210⟩ 138

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ABL2 (NM\_005158).

<400> 138

caggeegetg agaaaatet 19

43/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK1 (NM\_004071).

<400> 139

ccaggaaacg taaatattt

19

<210> 140

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK1 (NM\_004071).

<400> 140

catttcgact ggatcatat

19

<210> 141

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK1 (NM\_004071).

<400> 141

caggaaacgt aaatatttt

19

⟨210⟩ 142

⟨211⟩ 19

<212> DNA

44/269

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK1 (NM\_004071).

<400> 142

ctttggtagt gcaacatat

19

⟨210⟩ 143

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for CLK1 (NM\_004071).

<400> 143

cgtactaagt gcaagatat

19

<210> 144

〈211〉 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for CLK2 (NM\_001291).

<400> 144

gtatgaccgg cgatactgt

19

<210> 145

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK2 (NM\_001291).

45/269

gctacagacg caacgatta 19

(210) 146

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for CLK2 (NM\_001291).

<400> 146

ctacagacgc aacgattat 19

<210> 147

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for CLK2 (NM\_001291).

<400> 147

ggagttaccg tgaacacta 19

<210> 148

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK2 (NM\_001291).

<400> 148

gagttaccgt gaacactat 19

⟨210⟩ 149

46/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK3 (NM\_001292).

<400> 149

gccgtgacag cgatacata

19

<210> 150

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK3 (NM\_001292).

<400> 150

cctacagtcg ggaacatga

19

⟨210⟩ 151

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK3 (NM\_001292).

<400> 151

ctacagtcgg gaacatgaa

19

<210> 152

<211> 19

<212> DNA

47/269

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK3 (NM\_001292).

⟨400⟩ 152

cgccgtgaca gcgatacat

19

⟨210⟩ 153

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK3 (NM\_001292).

⟨400⟩ 153

geeteecea egaagatet

19

(210) 154

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK3 (NM\_001292).

<400> 154

ggtgaaggca cctttggca

19

⟨210⟩ 155

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK4 (NM\_020666).

⟨400⟩ 156

gaaaacgcaa gtattttca 19

<210> 157 <211> 19 <212> DNA

<213> Homo sapiens

 $\ensuremath{\texttt{\langle 220\rangle}}$   $\ensuremath{\texttt{\langle 223\rangle}}$  siRNA target sequence for CLK4 (NM\_020666).

<400> 157

cctggttcga agaatgtta 19

<210> 158 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>

<223> siRNA target sequence for CLK4 (NM\_020666).

<400> 158 cttgaatgag cgagattat 19

49/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK4 (NM\_020666).

<400> 159

cagatetgee agteaataa

19

<210> 160

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK4 (NM\_020666).

<400> 160

cgttctaaga gcaagatat

19

⟨210⟩ 161

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK4 (NM\_020666).

<400> 161

caaagtggag acgttctaa

19

⟨210⟩ 162

<211> 19

<212> DNA

50/269

<220>

<223> siRNA target sequence for CLK4 (NM\_020666).

<400> 162

ctaagagcaa gatatgaaa

19

<210> 163

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for GSK3B (NM\_002093).

⟨400⟩ 163

gtccgattgc gttatttct

19

⟨210⟩ 164

〈211〉 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for GSK3B (NM\_002093).

⟨400⟩ 164

gctagatcac tgtaacata

19

<210> 165

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for GSK3B (NM\_002093).

51/269

gacgeteeet gtgatttat 19

⟨210⟩ 166

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for GSK3B (NM\_002093).

<400> 166

cccaatgttt cgtatatct 19

⟨210⟩ 167

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for GSK3B (NM\_002093).

<400> 167

cgaggagaac ccaatgttt 19

⟨210⟩ 168

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for GSK3B (NM\_002093).

<400> 168

gtatatcaag ccaaacttt 19

52/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for GSK3B (NM\_002093).

⟨400⟩ 169

catttggtgt ggtatatca

19

<210> 170

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for GSK3B (NM\_002093).

<400> 170

ggtatatcaa gccaaactt

19

<210> 171

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SRPK2 (NM\_182691).

<400> 171

gccaaatgga cgacataaa

19

⟨210⟩ 172

<211> 19

<212> DNA

53/269

<220>

<223> siRNA target sequence for SRPK2 (NM\_182691).

<400> 172

ccaaatggac gacataaaa

19

⟨210⟩ 173

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SRPK2 (NM\_182691).

<400> 173

caaatggacg acataaaat

19

(210) 174

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SRPK2 (NM\_182691).

<400> 174

ctgatcccga tgttagaaa

19

<210> 175

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SRPK2 (NM\_182691).

54/269

ggccggtatc atgttatta 19

<210> 176

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT1 (NM\_005430).

<400> 176

ggccgtacga ccgtattct 19

<210> 177

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for WNT1 (NM\_005430).

<400> 177

gcgtctgata cgccaaaat 19

<210> 178

<211> 19

<212> DNA

<213> Ilomo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT1 (NM\_005430).

<400> 178

cccacgacct cgtctactt 19

55/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT1 (NM\_005430).

<400> 179

caaacagcgg cgtctgata

19

⟨210⟩ 180

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT1 (NM\_005430).

(400> 180

gagaaatcgc ccaacttct

19

<210> 181

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT1 (NM\_005430).

<400> 181

ctcgtctact tcgagaaat

19

⟨210⟩ 182

⟨211⟩ 19

<212> DNA

56/269

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for WNT1 (NM\_005430).

⟨400⟩ 182

gacctcgtct acttcgaga

19

⟨210⟩ 183

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT2 (NM\_003391).

<400> 183

gggtgatgtg cgataatgt

19

⟨210⟩ 184

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT2 (NM\_003391).

<400> 184

ggaaaacggg cgattatct

19

⟨210⟩ 185

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT2 (NM\_003391).

57/269

gctaacgaga ggtttaaga 19

<210> 186

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT2 (NM\_003391).

⟨400⟩ 186

ctaacgagag gtttaagaa 19

⟨210⟩ 187

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT2 (NM\_003391).

<400> 187

ggtcctactc cgaagtagt 19

<210> 188

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT2 (NM\_003391).

⟨400⟩ 188

gacctcgtgt attttgaga 19

58/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT2 (NM\_003391).

<400> 189

gaaaaatgac ctcgtgtat

19

⟨210⟩ 190

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT2 (NM\_003391).

<400> 190

cgaaaaatga cctcgtgta

19

⟨210⟩ 191

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT7A (NM\_004625).

<400> 191

ctgggcgcaa gcatcatct

19

⟨210⟩ 192

<211> 19

<212> DNA

59/269

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT7A (NM\_004625).

⟨400⟩ 192

gttcacctac gccatcatt

19

⟨210⟩ 193

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT7A (NM\_004625).

⟨400⟩ 193

gcccggactc tcatgaact

19

<210> 194

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT7A (NM\_004625).

<400> 194

gcttcgccaa ggtctttgt

19

<210> 195

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT7A (NM\_004625).

60/269

cctggacgag tgtcagttt 19

⟨210⟩ 196

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT7A (NM\_004625).

<400> 196

gacgagtgtc agtttcagt 19

<210> 197

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for WNT7A (NM\_004625).

<400> 197

catcategte ataggagaa 19

<210> 198

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT11 (NM\_004626).

<400> 198

gatcccaagc caataaact 19

61/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT11 (NM\_004626).

<**400**> 199

gacagetgeg acettatgt

19

⟨210⟩ 200

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT11 (NM\_004626).

<400> 200

gcgacagctg cgaccttat

19

⟨210⟩ 201

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT11 (NM\_004626).

<400> 201

ccggcgtgtg ctatggcat

19

⟨210⟩ 202

<211> 19

<212> DNA

62/269

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for WNT11 (NM\_004626).

⟨400⟩ 202

gtgtgctatg gcatcaagt

19

⟨210⟩ 203

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT11 (NM\_004626).

<400> 203

ctgatgcgtc tacacaaca

19

<210> 204

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT11 (NM\_004626).

<400> 204

gatgcgtcta cacaacagt

19

⟨210⟩ 205

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT3 (NM\_030753).

63/269

gctgtgactc gcatcataa 19

⟨210⟩ 206

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT3 (NM\_030753).

<400> 206

ctgacttcgg cgtgttagt 19

<210> 207

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT3 (NM\_030753).

<400> 207

gacttcggcg tgttagtgt 19

<210> 208

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT3 (NM\_030753).

<400> 208

gaccggactt gcaatgtca 19

64/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT3 (NM\_030753).

⟨400⟩ 209

ctcgctggct acccaattt

19

<210> 210

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT3 (NM\_030753).

<400> 210

gctggctacc caatttggt

19

<210> 211

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT3A (NM\_033131).

<400> 211

gccccactcg gatacttct

19

<210> 212

⟨211⟩ 19

<212> DNA

65/269

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT3A (NM\_033131).

<400> 212

ccccactcgg atacttctt

19

⟨210⟩ 213

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT3A (NM\_033131).

⟨400⟩ 213

cccactcgga tacttctta

19

⟨210⟩ 214

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT3A (NM\_033131).

<400> 214

gctgttgggc cacagtatt

19

⟨210⟩ 215

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT3A (NM\_033131).

66/269

19 gaggcctcgc ccaacttct ⟨210⟩ 216 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for WNT3A (NM\_033131). <400> 216 19 ggaactacgt ggagatcat <210> 217 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>  $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for WNT3A (NM\_033131). <400> 217 19 ggcagctacc cgatctggt ⟨210⟩ 218 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>

<223> siRNA target sequence for WNT3A (NM\_033131).

⟨400⟩ 218

gcaggaacta cgtggagat 19

67/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT5A (NM\_003392).

<400> 219

gtggtcgcta ggtatgaat

19

⟨210⟩ 220

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT5A (NM\_003392).

<400> 220

ggtcgctagg tatgaataa

19

⟨210⟩ 221

〈211〉 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\scriptsize <223>}$  siRNA target sequence for WNT5A (NM\_003392).

<400> 221

ggataacacc tctgttttt

19

⟨210⟩ 222

(211) 19

<212> DNA

68/269

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT5A (NM\_003392).

<400> 222

ccttcgccca ggttgtaat

19

⟨210⟩ 223

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT5A (NM\_003392).

⟨400⟩ 223

cttggtggtc gctaggtat

19

⟨210⟩ 224

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT5A (NM\_003392).

<400> 224

ccaactggca ggactttct

19

⟨210⟩ 225

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT5A (NM\_003392).

69/269

gttcagatgt cagaagtat 19

⟨210⟩ 226

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for WNT5A (NM\_003392).

<400> 226

gtatgaataa ccctgttca 19

<210> 227

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL1 (NM\_004196).

<400> 227

cgaaacattc cgtgattaa 19

⟨210⟩ 228

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL1 (NM\_004196).

<400> 228

ctcgtgaaga gcataactt 19

70/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for CDKL1 (NM\_004196).

<400> 229

ggaccgagtg actactata

19

⟨210⟩ 230

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL1 (NM\_004196).

⟨400⟩ 230

gttgcatcac ccatatttt

19

⟨210⟩ 231

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{<}223\texttt{>}}$  siRNA target sequence for CDKL1 (NM\_004196).

⟨400⟩ 231

cactgcaagc tgtaaattt

19

⟨210⟩ 232

(211) 19

<212> DNA

71/269

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL1 (NM\_004196).

⟨400⟩ 232

gatgaccctg tcataaaga

19

⟨210⟩ 233

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL2 (NM\_003948).

⟨400⟩ 233

gatcagctat atcatatta

19

⟨210⟩ 234

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL2 (NM\_003948).

⟨400⟩ 234

ccatcaggca tttataaca

19

⟨210⟩ 235

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL2 (NM\_003948).

72/269

catcaggcat ttataacat 19

⟨210⟩ 236

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL2 (NM\_003948).

⟨400⟩ 236

ctgaagtggt gatagattt 19

⟨210⟩ 237

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL2 (NM\_003948).

<400> 237

cagctatatc atattatga 19

⟨210⟩ 238

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL2 (NM\_003948).

<400> 238

gattattaat ggaattgga 19

73/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL2 (NM\_003948).

⟨400⟩ 239

ggtacaggat accaatgct

19

<210> 240

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL3 (NM\_016508).

<400> 240

gageteega attagtatt

19

<210> 241

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL3 (NM\_016508).

<400> 241

gctcccgaat tagtattaa

19

<210> 242

<211> 19

<212> DNA

74/269

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL3 (NM\_016508).

<400> 242

cacccatcaa tctaactaa

19

⟨210⟩ 243

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL3 (NM\_016508).

<400> 243

ctaactaaca gtaatttga

19

<210> 244

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL3 (NM\_016508).

<400> 244

ctcccgaatt agtattaaa

19

<210> 245

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDKL3 (NM\_016508).

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

75/269

gttcatgctt gtttacaaa 19 <210> 246 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for CDKL3 (NM\_016508). <400> 246 ctttgggctg tatgatcat 19 ⟨210⟩ 247 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for CDKL3 (NM\_016508). <400> 247 gcagatatag ttcatgctt 19 ⟨210⟩ 248 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for MAPK1 (NM\_002745). <400> 248 gaagacctga attgtataa 19

76/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for MAPK1 (NM\_002745).

<400> 249

caaccatcga gcaaatgaa

19

<210> 250

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK1 (NM\_002745).

<400> 250

ccaaagctct ggacttatt

19

<210> 251

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK1 (NM\_002745).

⟨400⟩ 251

gacctgaatt gtataataa

19

⟨210⟩ 252

⟨211⟩ 19

<212> DNA

77/269

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for MAPK1 (NM\_002745).

<400> 252

gtgtgctctg cttatgata

19

<210> 253

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK1 (NM\_002745).

<400> 253

cttactgcgc ttcagacat

19

<210> 254

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK1 (NM\_002745).

<400> 254

gcttcagaca tgagaacat

19

<210> 255

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK1 (NM\_002745).

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

78/269

19 ctgcgcttca gacatgaga ⟨210⟩ 256 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for NLK (NM\_016231). <400> 256 gagtagcgct caaaaagat 19 <210> 257 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for NLK (NM\_016231). <400> 257 19 gcgctaaggc acatatact <210> 258 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for NLK (NM\_016231). <400> 258 19 ctactaggac gaagaatat

79/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for NLK (NM\_016231).

⟨400⟩ 259

ctccacacat tgactattt

19

⟨210⟩ 260

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for NLK (NM\_016231).

<400> 260

gattttgcga ggtttgaaa

19

<210> 261

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for NLK (NM\_016231).

<400> 261

gtccgacagg ttaaagaaa

19

<210> 262

<211> 19

<212> DNA

80/269

<220>

<223> siRNA target sequence for NLK (NM\_016231).

<400> 262

ccgacaggtt aaagaaatt

19

<210> 263

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK14 (NM\_001315).

⟨400⟩ 263

ctccgaggtc taaagtata

19

(210) 264

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK14 (NM\_001315).

<400> 264

ccgaggtcta aagtatata

19

<210> 265

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for MAPK14 (NM\_001315).

81/269

ggtctgttgg acgttttta 19

⟨210⟩ 266

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK14 (NM\_001315).

<400> 266

ctgcggttac ttaaacata 19

<210> 267

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for MAPK14 (NM\_001315).

<400> 267

gaggtetaaa gtatataca 19

⟨210⟩ 268

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK14 (NM\_001315).

<400> 268

gtttcctggt acagaccat 19

⟨210⟩ 269

82/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK11 (NM\_002751).

<400> 269

gcgacgagca cgttcaatt

19

⟨210⟩ 270

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK11 (NM\_002751).

<400> 270

cccgggaagc gactacatt

19

<210> 271

<211> 19

<212> DNA

<213> Ilomo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK11 (NM\_002751).

<400> 271

cgggaagcga ctacattga

19

<210> 272

<211> 19

<212> DNA

83/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK11 (NM\_002751).

⟨400⟩ 272

gaggttctgg caaaaatct

19

⟨210⟩ 273

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK11 (NM\_002751).

<400> 273

ctgaggttct ggcaaaaat

19

<210> 274

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK12 (NM\_002969).

<400> 274

gaagcgtgtt acttacaaa

19

<210> 275

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK12 (NM\_002969).

84/269

gctgctggac gtattcact 19
<210> 276
<211> 19

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for MAPK12 (NM\_002969).

⟨400⟩ 276

<212> DNA

ggaagcgtgt tacttacaa 19

<210> 277

<211> 19 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK12 (NM\_002969).

<400> 277

cccgaggtca tcttgaatt 19

<210> 278 <211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK12 (NM\_002969).

<400> 278

gaatggaagc gtgttactt 19

85/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK13 (NM\_002754).

⟨400⟩ 279

ctgagccgac cctttcagt

19

⟨210⟩ 280

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK13 (NM\_002754).

⟨400⟩ 280

cctttcagtc cgagatctt

19

⟨210⟩ 281

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK13 (NM\_002754).

<400> 281

ccttagaaca cgagaaact

19

⟨210⟩ 282

<211> 19

<212> DNA

86/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK13 (NM\_002754).

⟨400⟩ 282

ccctgcgcaa cttctatga

19

⟨210⟩ 283

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK13 (NM\_002754).

<400> 283

ctgcgcaact tctatgact

19

(210) 284

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK8 (NM\_139049).

⟨400⟩ 284

gacttaaagc ccagtaata

19

⟨210⟩ 285

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK8 (NM\_139049).

87/269

gagagctagt tcttatgaa 19

<210> 286 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>

<223> siRNA target sequence for MAPK8 (NM\_139049).

<400> 286 cttaaageec agtaatata 19

<210> 287
<211> 19
<212> DNA
<213> Homo sapiens
<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK8 (NM\_139049).

<400> 287
caggaacgag ttttatgat 19

<210> 288 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>

<223> siRNA target sequence for MAPK8 (NM\_139049).

<400> 288 gcaggaacga gttttatga 19

88/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK8 (NM\_139049).

<400> 289

gaaatcccta gaagaattt

19

⟨210⟩ 290

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK9 (NM\_002752).

<400> 290

gtttgtgctg catttgata

19

<210> 291

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK9 (NM\_002752).

⟨400⟩ 291

gagettateg tgaacttgt

19

(210) 292

(211) 19

<212> DNA

89/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK9 (NM\_002752).

⟨400⟩ 292

gccagagatc tgttatcaa

19

⟨210⟩ 293

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK9 (NM\_002752).

<400> 293

ccagagatct gttatcaaa

19

<210> 294

〈211〉 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for MAPK9 (NM\_002752).

<400> 294

cagagatctg ttatcaaaa

19

<210> 295

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK10 (NM\_002753).

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

90/269

gtggtgacac gttattaca 19 <210> 296 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for MAPK10 (NM\_002753). <400> 296 cggactccga gcacaataa 19 <210> 297 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>  $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for MAPK10 (NM\_002753). <400> 297 ggactccgag cacaataaa 19 ⟨210⟩ 298 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for MAPK10 (NM\_002753). <400> 298 gtggaataag gtaattgaa 19

91/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK10 (NM\_002753).

⟨400⟩ 299

ctaaaaatgg tgtagtaaa

19

⟨210⟩ 300

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK10 (NM\_002753).

<400> 300

ggaaagaact tatctacaa

19

⟨210⟩ 301

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK10 (NM\_002753).

<400> 301

gtagtcaagt ctgattgca

19

<210> 302

⟨211⟩ 19

<212> DNA

92/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPK10 (NM\_002753).

<400> 302

gaaatggttc gccacaaaa

19

⟨210⟩ 303

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDC2 (NM\_001786).

⟨400⟩ 303

gatttgctct cgaaaatgt

19

(210) 304

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDC2 (NM\_001786).

<400> 304

ctctcgaaaa tgttaatct

19

<210> 305

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDC2 (NM\_001786).

93/269

gggcactccc aataatgaa 19

<210> 306

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDC2 (NM\_001786).

⟨400⟩ 306

ctttacagga ctataagaa 19

⟨210⟩ 307

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDC2 (NM\_001786).

<400> 307

gagtatagge accatattt 19

⟨210⟩ 308

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDC2 (NM\_001786).

<400> 308

gacaatcaga ttaagaaga 19

⟨210⟩ 309

94/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDK2 (NM\_001798).

⟨400⟩ 309

ctctacctgg tttttgaat

19

<210> 310

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDK2 (NM\_001798).

⟨400⟩ 310

cttctatgcc tgattacaa

19

⟨210⟩ 311

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDK2 (NM\_001798).

<400> 311

gatggacgga gcttgttat

19

<210> 312

<211> 19

<212> DNA

95/269

<220>

<223> siRNA target sequence for CDK2 (NM\_001798).

<400> 312

ctacctggtt tttgaattt

19

⟨210⟩ 313

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDK2 (NM\_001798).

⟨400⟩ 313

gcacgtacgg agttgtgta

19

⟨210⟩ 314

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDK4 (NM\_000075).

⟨400⟩ 314

cctatgggac agtgtacaa

19

<210> 315

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for CDK4 (NM\_000075).

96/269

19 gatgtttcgt cgaaagcct ⟨210⟩ 316 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens ⟨220⟩ <223> siRNA target sequence for CDK4 (NM\_000075). ⟨400⟩ 316 19 cgtgaggtgg ctttactga ⟨210⟩ 317 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Ilomo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for CDK4 (NM\_000075). <400> 317 19 ggtgtcggtg cctatggga <210> 318 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>  $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for CDK4 (NM\_000075). <400> 318 19 cgaactgacc gggagatca

⟨210⟩ 319

97/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for CDK4 (NM\_052984).

⟨400⟩ 319

gaccgggaga tcaagagat

19

<210> 320

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDK4 (NM\_052984).

<400> 320

cgggagatca agagatgtt

19

⟨210⟩ 321

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDK7 (NM\_001799).

⟨400⟩ 321

ggacataaat ctaatatta

19

⟨210⟩ 322

<211> 19

<212> DNA

98/269

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for CDK7 (NM\_001799).

<400> 322

caaattgtcg ccattaaga

19

<210> 323

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for CDK7 (NM\_001799).

⟨400⟩ 323

ccccaataga gcttataca

19

⟨210⟩ 324

(211) 19

<212> DNA

<213> Ilomo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDK7 (NM\_001799).

<400> 324

cgggcaaagc gttatgaga

19

⟨210⟩ 325

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CDK7 (NM\_001799).

99/269

gggcaaagcg ttatgagaa 19

<210> 326

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for CDK7 (NM\_001799).

⟨400⟩ 326

cctacatgtt gatgactct 19

⟨210⟩ 327

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for STK11 (NM\_000455).

<400> 327

ggaggttacg gcacaaaaa 19

<210> 328

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for STK11 (NM\_000455).

<400> 328

gaggttacgg cacaaaaat 19

100/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for STK11 (NM\_000455).

⟨400⟩ 329

ggttacggca caaaaatgt

19

<210> 330

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for STK11 (NM\_000455).

<400> 330

cccaaggccg tgtgtatga

19

⟨210⟩ 331

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for STK11 (NM\_000455).

⟨400⟩ 331

ccaaggccgt gtgtatgaa

19

⟨210⟩ 332

<211> 19

<212> DNA

101/269

<220>

<223> siRNA target sequence for STK11 (NM\_000455).

⟨400⟩ 332

cagctggttc cggaagaaa

19

⟨210⟩ 333

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK1 (NM\_001274).

<400> 333

cagtatttcg gtataataa

19

⟨210⟩ 334

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK1 (NM\_001274).

<400> 334

gcatggtatt ggaataact

19

<210> 335

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK1 (NM\_001274).

102/269

gecceteata cattgataa 19

⟨210⟩ 336

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK1 (NM\_001274).

⟨400⟩ 336

ccacatgtcc tgatcatat 19

⟨210⟩ 337

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK1 (NM\_001274).

<400> 337

ggcaatatcc aatatttat 19

<210> 338

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK1 (NM\_001274).

<400> 338

ggtcctgtgg aatagtact 19

⟨210⟩ 339

103/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK1 (NM\_001274).

<400> 339

gaaagggata acctcaaaa

19

⟨210⟩ 340

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for CHEK1 (NM\_001274).

<400> 340

ctgtggaata gtacttact

19

<210> 341

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PIM1 (NM\_002648).

⟨400⟩ 341

ggccaacctt cgaagaaat

19

<210> 342

<211> 19

<212> DNA

104/269

<220>

<223> siRNA target sequence for PIM1 (NM\_002648).

⟨400⟩ 342

cgatgggacc cgagtgtat

19

⟨210⟩ 343

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PIM1 (NM\_002648).

<400> 343

gatgggaccc gagtgtata

19

<210> 344

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PIM1 (NM\_002648).

<400> 344

ggtttctccg gcgtcatta

19

<210> 345

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PIM1 (NM\_002648).

105/269

caaccttega agaaateea 19

⟨210⟩ 346

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PIM1 (NM\_002648).

<400> 346

ccctggagtc gcagtacca 19

<210> 347

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

(223) siRNA target sequence for PIM1 (NM\_002648).

<400> 347

gtggagaagg accggattt 19

⟨210⟩ 348

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PIM2 (NM\_006875).

<400> 348

ggggacattc cctttgaga 19

<210> 349

106/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PIM2 (NM\_006875).

<400> 349

ctcgaagtcg cactgctat

19

⟨210⟩ 350

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PIM2 (NM\_006875).

<400> 350

gaagtcgcac tgctatgga

19

<210> 351

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PIM2 (NM\_006875).

⟨400⟩ 351

gaacatcctg atagaccta

19

<210> 352

<211> 19

<212> DNA

107/269

<220>

<223> siRNA target sequence for PIM2 (NM\_006875).

<400> 352

gtggagttgt ccatcgtga

19

⟨210⟩ 353

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TRB2 (NM\_021643).

⟨400⟩ 353

cttgtatcgg gaaatactt

19

⟨210⟩ 354

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

(223) siRNA target sequence for TRB2 (NM\_021643).

<400> 354

gaagagttgt cgtctataa

19

⟨210⟩ 355

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TRB2 (NM\_021643).

108/269

gtatcgggaa atacttatt 19

<210> 356

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TRB2 (NM\_021643).

⟨400⟩ 356

ctcaagctgc ggaaattca 19

⟨210⟩ 357

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TRB2 (NM\_021643).

<400> 357

gggagatcgc ggaacaaaa 19

<210> 358

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TRB2 (NM\_021643).

<400> 358

gttctttgag cgaagctat 19

<210> 359

109/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TRB2 (NM\_021643).

<400> 359

cccgagactc cgaacttgt

19

<210> 360

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TRIO (NM\_007118).

<400> 360

caccaatgcg gataaatta

19

<210> 361

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TRIO (NM\_007118).

<400> 361

ccaatgcgga taaattact

19

<210> 362

<211> 19

<212> DNA

110/269

<220>

<223> siRNA target sequence for TRIO (NM\_007118).

<400> 362

gaaatctacg aatttcata

19

⟨210⟩ 363

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for TRIO (NM\_007118).

<400> 363

gagcagatcg tcatattca

19

<210> 364

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TRIO (NM\_007118).

⟨400⟩ 364

cctatccgta gcattaaaa

19

<210> 365

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for DAPK1 (NM\_004938).

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

111/269

19 caatccgttc gcttgatat <210> 366 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for DAPK1 (NM\_004938). <400> 366 19 ggtgtttcgt cgattatca <210> 367 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for DAPK1 (NM\_004938). <400> 367 19 gtgtttcgtc gattatcaa ⟨210⟩ 368 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for DAPK1 (NM\_004938). <223> <400> 368

19

⟨210⟩ 369

gaaggtactt cgaaatcat

112/269

<211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for DAPK1 (NM\_004938). ⟨400⟩ 369 gaaacgttag caaatgtat 19 ⟨210⟩ 370 (211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for DAPK1 (NM\_004938). <400> 370 gggtaataac ctatatcct 19 <210> 371 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for DAPK1 (NM\_004938). <400> 371 19 gaggcgagtt tggatatga ⟨210⟩ 372 <211> 19 <212> DNA

113/269

<220>

<223> siRNA target sequence for DAPK1 (NM\_004938).

⟨400⟩ 372

ggcccataaa attgacttt

19

<210> 373

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKAA2 (NM\_006252).

<400> 373

gaaacgagca actatcaaa

19

<210> 374

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKAA2 (NM\_006252).

<400> 374

gaagattcgc agtttagat

19

<210> 375

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKAA2 (NM\_006252).

114/269

gcaaaccgta tgacattat 19

⟨210⟩ 376

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKAA2 (NM\_006252).

⟨400⟩ 376

ctggcaatta cgtgaaaat 19

⟨210⟩ 377

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKAA2 (NM\_006252).

<400> 377

ggcaattacg tgaaaatga 19

⟨210⟩ 378

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCM (NM\_002742).

<400> 378

ggtacgtcaa ggtcttaaa 19

<210> 379

115/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCM (NM\_002742).

⟨400⟩ 379

gattggatag caaatgtat

19

⟨210⟩ 380

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCM (NM\_002742).

<400> 380

gtacgtcaag gtcttaaat

19

⟨210⟩ 381

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCM (NM\_002742).

⟨400⟩ 381

ggaaggcgat cttattgaa

19

<210> 382

<211> 19

<212> DNA

116/269

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCM (NM\_002742).

<400> 382

caccctggtg ttgtaaatt 19

⟨210⟩ 383

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCM (NM\_002742).

⟨400⟩ 383

cataacgaag tttttaatt 19

⟨210⟩ 384

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCM (NM\_002742).

<400> 384

ctatcagacc tggttagat 19

⟨210⟩ 385

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MKNK1 (NM\_003684).

117/269

19 gagtatgccg tcaaaatca ⟨210⟩ 386 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for MKNK1 (NM\_003684). <400> 386 19 caaaatcatc gagaaacaa <210> 387 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for MKNK1 (NM\_003684). <400> 387 19 gatgacacaa ggttttact <210> 388 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>  $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for MKNK1 (NM\_003684).

<400> 388 gtgccgtgag cctacagaa 19

⟨210⟩ 389

118/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MKNK1 (NM\_003684).

⟨400⟩ 389

gcaaggaggt tccatctta

19

⟨210⟩ 390

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPKAPK2 (NM\_004759).

⟨400⟩ 390

ccatcaccga gtttatgaa

19

<210> 391

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPKAPK2 (NM\_004759).

<400> 391

cgaatgggcc agtatgaat

19

⟨210⟩ 392

<211> 19

<212> DNA

119/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPKAPK2 (NM\_004759).

<400> 392

cctgagaatc tcttataca

19

<210> 393

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPKAPK2 (NM\_004759).

⟨400⟩ 393

gttatacacc gtactatgt

19

<210> 394

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAPKAPK2 (NM\_004759).

<400> 394

gatgtgtacg agaatctgt

19

<210> 395

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK2G (NM\_172171).

120/269

19 gagtacgcag caaaaatca ⟨210⟩ 396 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for CAMK2G (NM\_172171). <400> 396 19 ctgctgctgg cgagtaaat <210> 397 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for CAMK2G (NM\_172171). <400> 397 19 ggtacacaac gctacagat <210> 398 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for CAMK2G (NM\_172171). <223> <400> 398 19 gcctagccat cgaagtaca

<210> 399

121/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK2G (NM\_172171).

⟨400⟩ 399

ctgctggcga gtaaatgca

19

⟨210⟩ 400

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK2G (NM\_172171).

<400> 400

ctcgtgtttg accttgtta

19

<210> 401

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK2G (NM\_172171).

<400> 401

gcggggtcat cctgtatat

19

⟨210⟩ 402

⟨211⟩ 19

<212> DNA

122/269

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK2A (NM\_015981).

<400> 402

ccatcgattc tattttgaa

19

⟨210⟩ 403

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK2A (NM\_015981).

<400> 403

cttccatcga ttctatttt

19

<210> 404

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK2A (NM\_015981).

<400> 404

cggaaacagg aaattataa

19

<210> 405

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Ilomo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK2A (NM\_015981).

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

123/269

19 gcggaaacag gaaattata ⟨210⟩ 406 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for CAMK2A (NM\_015981). <400> 406 19 gaccattaac ccatccaaa <210> 407 (211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for CAMK2A (NM\_015981). <400> 407 19 gagtcctaca cgaagatgt <210> 408 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>  $\ensuremath{\scriptsize <223>}$  siRNA target sequence for CAMK2A (NM\_015981). <400> 408 19 ggcagatcgt ccacttcca

<210> 409

124/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK2A (NM\_015981).

<400> 409

cagategtee acttecaca

19

<210> 410

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK1G (NM\_020439).

<400> 410

ggtcatggta ccagttaaa

19

<210> 411

〈211〉 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK1G (NM\_020439).

<400> 411

ggagtctgtc tcattatgt

19

<210> 412

⟨211⟩ 19

<212> DNA

125/269

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK1G (NM\_020439).

<400> 412

gtggataccc cccattcta

19

⟨210⟩ 413

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK1G (NM\_020439).

<400> 413

ctggattgac ggaaacaca

19

⟨210⟩ 414

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK1G (NM\_020439).

<400> 414

gaaacggagt ctaagcttt

19

⟨210⟩ 415

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CAMK1G (NM\_020439).

126/269

gggatcagga gctttctca 19 ⟨210⟩ 416 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for CAMK1G (NM\_020439). ⟨400⟩ 416 19 gcaagtggag gcaagcctt <210> 417 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for CHEK2 (NM\_007194). <400> 417 19 ctcttacatt gcatacata <210> 418 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for CHEK2 (NM\_007194). <400> 418

19

<210> 419

ctcaggaact ctattctat

127/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK2 (NM\_007194).

⟨400⟩ 419

gtttaggagt tattctttt

19

⟨210⟩ 420

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK2 (NM\_007194).

<400> 420

gataaatacc gaacataca

19

<210> 421

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK2 (NM\_007194).

⟨400⟩ 421

cagataaata ccgaacata

19

⟨210⟩ 422

<211> 19

<212> DNA

128/269

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK2 (NM\_007194).

<400> 422

gtagatgatc agtcagttt

19

⟨210⟩ 423

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK2 (NM\_007194).

⟨400⟩ 423

gatcagtcag tttatccta

19

<210> 424

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHEK2 (NM\_007194).

<400> 424

ctgtagatga tcagtcagt

19

<210> 425

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PDK1 (NM\_002610).

129/269

19 gactcccagt gtataacaa ⟨210⟩ 426 ⟨211⟩ 19 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<220> <223> siRNA target sequence for PDK1 (NM\_002610).

<400> 426 19 catgagtcgc atttcaatt

<210> 427 <211> 19 <212> DNA

<213> Homo sapiens

siRNA target sequence for PDK1 (NM\_002610). <400> 427

19 ggacaccatc cgttcaatt

<210> 428 ⟨211⟩ 19

<220>

siRNA target sequence for PDK1 (NM\_002610). <400> 428

19 gtctttacgc acaatactt

<210> 429

<220>

<212> DNA

130/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PDK1 (NM\_002610).

⟨400⟩ 429

ggatgctaaa gctatttat

19

⟨210⟩ 430

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ADRBK1 (NM\_001619).

<400> 430

gggacgtgtt ccagaaatt

19

<210> 431

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ADRBK1 (NM\_001619).

<400> 431

gagatetteg acteataca

19

⟨210⟩ 432

<211> 19

<212> DNA

131/269

<220>

<223> siRNA target sequence for ADRBK1 (NM\_001619).

<400> 432

gacaaaaagc gcatcaaga

19

⟨210⟩ 433

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ADRBK1 (NM\_001619).

<400> 433

gccatacatc gaagagatt

19

<210> 434

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ADRBK1 (NM\_001619).

<400> 434

gacgtgttcc agaaattca

19

<210> 435

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ADRBK1 (NM\_001619).

132/26919 caaaaggaat caagttact ⟨210⟩ 436 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> ⟨223⟩ siRNA target sequence for ADRBK1 (NM\_001619). ⟨400⟩ 436 19 cacaaaagga atcaagtta <210> 437 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ADRBK1 (NM\_001619). <400> 437 19 ccggcagcac aagaccaaa <210> 438 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ADRBK2 (NM\_005160). <400> 438 19 gagagtcccg gcaaaattt

⟨210⟩ 439

133/269

<211> 19 <212> DNA <213> Home

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ADRBK2 (NM\_005160).

<400> 439

ggagagtccc ggcaaaatt

19

<210> 440

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ADRBK2 (NM\_005160).

<400> 440

cagcatgtct acttacaaa

19

⟨210⟩ 441

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ADRBK2 (NM\_005160).

<400> 441

cagaagtcga caaatttat

19

<210> 442

<211> 19

<212> DNA

134/269

<220>

<223> siRNA target sequence for ADRBK2 (NM\_005160).

<400> 442

gcagaagtcg acaaattta

19

<210> 443

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RPS6KB1 (NM\_003161).

<400> 443

ccgatcacct cgaagattt

19

(210) 444

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RPS6KB1 (NM\_003161).

<400> 444

cacctgcgta tgaatctat

19

⟨210⟩ 445

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RPS6KB1 (NM\_003161).

135/269

19 gatcacctcg aagatttat <210> 446 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for RPS6KB1 (NM\_003161). <400> 446 19 gtttgggagc attaatgta <210> 447 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for RPS6KB1 (NM\_003161). <400> 447 19 cgatcacctc gaagattta <210> 448 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for RPS6KA6 (NM\_014496). <400> 448 19 gaaggettae teattttgt

⟨210⟩ 449

136/269 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for RPS6KA6 (NM\_014496). <400> 449 19 ggaggctagt gatatacta ⟨210⟩ 450 (211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for RPS6KA6 (NM\_014496). <400> 450 19 gaggetagtg atatactat <210> 451 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for RPS6KA6 (NM\_014496). <**400**> **451** 19 gggaggctag tgatatact

<210> 452</211> 19

<212> DNA

137/269

<220>

<223> siRNA target sequence for RPS6KA6 (NM\_014496).

⟨400⟩ 452

cttgttacgg atttaatga

19

<210> 453

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RPS6KA6 (NM\_014496).

<400> 453

gaaatgagac catgaatat

19

(210) 454

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RPS6KA6 (NM\_014496).

<400> 454

gatgcgctat ggacaacat

19

<210> 455

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RPS6KA6 (NM\_014496).

138/269

19 ggaatccagc aaatagatt <210> 456 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for RPS6KA1 (NM\_002953). <400> 456 19 ctatggggtg ttgatgttt <210> 457 (211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for RPS6KA1 (NM\_002953). <400> 457 19 gctgtcaagg tcattgata <210> 458 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for RPS6KA1 (NM\_002953). <223> <400> 458 19 ctgtcaaggt cattgataa

139/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RPS6KA1 (NM\_002953).

<400> 459

ggtcctatgg ggtgttgat

19

<210> 460

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RPS6KA1 (NM\_002953).

<400> 460

cctatggggt gttgatgtt

19

(210) 461

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RPS6KA1 (NM\_002953).

⟨400⟩ 461

gcgggacagt ggagtacat

19

<210> 462

<211> 19

<212> DNA

140/269

<220>

<223> siRNA target sequence for RPS6KA1 (NM\_002953).

<400> 462

gctaggcatg ccccagttt

19

⟨210⟩ 463

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RPS6KA1 (NM\_002953).

⟨400⟩ 463

caccaacatg gagtatgct

19

<210> 464

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT2 (NM\_001626).

<400> 464

ctctacccc cttaaacaa

19

<210> 465

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT2 (NM\_001626).

141/269

cacaagcgtg gtgaataca 19

<210> 466

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT2 (NM\_001626).

<400> 466

ctaccccct taaacaact 19

<210> 467

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT2 (NM\_001626).

<400> 467

cgtggtgaat acatcaaga 19

⟨210⟩ 468

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT2 (NM\_001626).

<400> 468

gcaaggcacg ggctaaagt 19

142/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT1 (NM\_005163).

⟨400⟩ 469

gactgacacc aggtatttt

19

<210> 470

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT1 (NM\_005163).

<400> 470

ctgacaccag gtattttga

19

<210> 471

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT1 (NM\_005163).

<400> 471

gagactgaca ccaggtatt

19

<210> 472

<211> 19

<212> DNA

143/269

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT1 (NM\_005163).

<400> 472

cttctatggc gctgagatt

19

⟨210⟩ 473

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT1 (NM\_005163).

⟨400⟩ 473

cagccctgaa gtactcttt

19

(210) 474

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT3 (NM\_005465).

<400> 474

ccagtggact actgttata

19

<210> 475

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT3 (NM\_005465).

144/269

cattcatagg atataaaga 19

⟨210⟩ 476

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT3 (NM\_005465).

⟨400⟩ 476

cctctacaac ccatcataa

19

<210> 477

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT3 (NM\_005465).

<400> 477

gagacagata ctagatatt

19

<210> 478

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT3 (NM\_005465).

<400> 478

ggaccgcaca cgtttctat

19

145/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT3 (NM\_005465).

<400> 479

cagctcagac tattacaat

19

⟨210⟩ 480

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for AKT3 (NM\_005465).

<400> 480

gctcagacta ttacaataa

19

<210> 481

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGK (NM\_005627).

<400> 481

ggcctgccgc ctttttata

19

⟨210⟩ 482

<211> 19

<212> DNA

146/269

<220>

<223> siRNA target sequence for SGK (NM\_005627).

<400> 482

gggtctgaac gactttatt

19

⟨210⟩ 483

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for SGK (NM\_005627).

⟨400⟩ 483

gtctgaacga ctttattca

19

<210> 484

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGK (NM\_005627).

<400> 484

ggagcctgag cttatgaat

19

<210> 485

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGK (NM\_005627).

147/269gaggagaagc atattatgt 19 <210> 486 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for SGK (NM\_005627). ⟨400⟩ 486 catcgtttat agagactta 19 <210> 487 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for SGK (NM\_005627). <400> 487 19 ctatgcagtc aaagtttta ⟨210⟩ 488 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>  $\ensuremath{\texttt{\langle 223\rangle}}$  siRNA target sequence for SGK (NM\_005627). <400> 488 gatcggaaag ggcagtttt 19

148/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for SGK2 (NM\_170693).

⟨400⟩ 489

gtctgatggg gcgttctat

19

⟨210⟩ 490

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGK2 (NM\_170693).

<400> 490

cagactttct tgagattaa

19

<210> 491

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGK2 (NM\_170693).

<400> 491

gactttcttg agattaaga

19

⟨210⟩ 492

⟨211⟩ 19

<212> DNA

149/269

<220>

<223> siRNA target sequence for SGK2 (NM\_170693).

⟨400⟩ 492

gtggtacccc tgagtactt

19

<210> 493

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGK2 (NM\_170693).

<400> 493

cagtgaaggt actacagaa

19

<210> 494

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGK2 (NM\_170693).

<400> 494

gtgggcctgc gctactcct

19

<210> 495

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGKL (NM\_013257).

150/269

caggactaaa cgaattcat 19

<210> 496

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGKL (NM\_013257).

<400> 496

gacaccacta ccacatttt 19

<210> 497

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGKL (NM\_013257).

<400> 497

gtatcttctg actattcta 19

<210> 498

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGKL (NM\_013257).

<400> 498

caccactacc acattttgt 19

151/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGKL (NM\_013257).

<400> 499

gttttacgct gctgaaatt

19

<210> 500

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGKL (NM\_013257).

<400> 500

caactgaaaa gctttattt

19

<210> 501

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SGKL (NM\_013257).

<400> 501

gaatatttgg tgataattt

19

<210> 502

<211> 19

<212> DNA

152/269

<220>

<223> siRNA target sequence for SGKL (NM\_013257).

<400> 502

ccaagtgtaa gcattccca

19

<210> 503

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCZ (NM\_002744).

<400> 503

geggaacee gaattacat

19

<210> 504

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCZ (NM\_002744).

<400> 504

caagccaagc gctttaaca

19

<210> 505

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCZ (NM\_002744).

153/269

caaagcctcc catgtttta 19

<210> 506

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCZ (NM\_002744).

<400> 506

ccaaatttac gccatgaaa 19

<210> 507

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCZ (NM\_002744).

<400> 507

cacgagagg ggatcatct 19

<210> 508

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Ilomo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCD (NM\_006254).

<400> 508

geggeaeeee tgaetatat 19

154/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCD (NM\_006254).

⟨400⟩ 509

ctaccgtgcc acgttttat

19

<210> 510

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCD (NM\_006254).

<400> 510

gggacctacg gcaagatct

19

<210> 511

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCD (NM\_006254).

<400> 511

gttcgacgcc cacatctat

19

<210> 512

<211> 19

<212> DNA

155/269

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCD (NM\_006254).

<400> 512

cagaaagaac gcttcaaca

19

(210) 513

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCD (NM\_006254).

<400> 513

gtgaagcagg gattaaagt

19

<210> 514

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCA (NM\_002737).

<400> 514

ggcgtcctgt tgtatgaaa

19

⟨210⟩ 515

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCA (NM\_002737).

156/269

gtgacacctg cgatatgaa 19

⟨210⟩ 516

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for PRKCA (NM\_002737).

<400> 516

gacgactgtc tgtagaaat 19

(210) 517

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCA (NM\_002737).

<400> 517

gaactgtatg caatcaaaa 19

<210> 518

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCA (NM\_002737).

⟨400⟩ 518

gctggttatt gctaacata 19

⟨210⟩ 519

157/269<211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>  $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for PRKCA (NM\_002737). <400> 519 19 gaagggttct cgtatgtca ⟨210⟩ 520 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for PRKCA (NM\_002737). <400> 520 19 ccattcaagc ccaaagtgt ⟨210⟩ 521 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>  $\ensuremath{\scriptsize <223>}$  siRNA target sequence for PRKCA (NM\_002737). <400> 521 19 gctgtacttc gtcatggaa

<210> 522

<211> 19

<212> DNA

<210> 523 <211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for PRKCB1 (NM\_002738).

<400> 523

catttttccg gtatattga

19

19

<210> 524

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCB1 (NM\_002738).

<400> 524

catttaccgt gacctaaaa

19

<210> 525

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCB1 (NM\_002738).

159/269

gatecetaeg taaaactga 19

⟨210⟩ 526

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCB1 (NM\_002738).

<400> 526

ggagcccat gctgtattt 19

<210> 527

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCB1 (NM\_002738).

<400> 527

gatgaaactg accgatttt 19

⟨210⟩ 528

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCB1 (NM\_002738).

<400> 528

gaattcgaag gattttcct 19

⟨210⟩ 529

160/269

19

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PRKCB1 (NM\_002738).

⟨400⟩ 529

ccatggaccg cctgtactt

⟨210⟩ 530

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLASP1 (NM\_015282).

<400> 530

gagccgtatg ggatgtatt 19

<210> 531

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLASP1 (NM\_015282).

<400> 531

gccgagctga cgattatga 19

<210> 532

⟨211⟩ 19

<212> DNA

161/269

<220>

<223> siRNA target sequence for CLASP1 (NM\_015282).

<400> 532

ccgagctgac gattatgaa

19

⟨210⟩ 533

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLASP1 (NM\_015282).

<400> 533

gcgatctcga agtgatatt

19

⟨210⟩ 534

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CLASP1 (NM\_015282).

<400> 534

cagtcccggt tgaatgtaa

19

⟨210⟩ 535

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TFPI (NM\_006287).

⟨400⟩ 535

162/269

19 ctcgacagtg cgaagaatt ⟨210⟩ 536 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for TFPI (NM\_006287). ⟨400⟩ 536 cgacagtgcg aagaattta 19 ⟨210⟩ 537 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for TFPI (NM\_006287). <400> 537 19 gacagtgcga agaatttat ⟨210⟩ 538 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for TFPI (NM\_006287). <400> 538 19 cagtgcgaag aatttatat

163/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TFPI (NM\_006287).

⟨400⟩ 539

gaatatgtcg aggttatat

19

<210> 540

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CNK (NM\_004073).

<400> 540

gttgactact ccaataagt

19

<210> 541

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CNK (NM\_004073).

<400> 541

gcgcctacgc tgtcaaagt

19

<210> 542

<211> 19

<212> DNA

164/269

<220>

<223> siRNA target sequence for CNK (NM\_004073).

<400> 542

cgccacatcg tgcgttttt

19

⟨210⟩ 543

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CNK (NM\_004073).

<400> 543

gggttgacta ctccaataa

19

⟨210⟩ 544

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CNK (NM\_004073).

<400> 544

gcgagaagat cctaaatga

19

<210> 545

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CNK (NM\_004073).

⟨400⟩ 545

165/269

cgcatcagcg cgagaagat 19

<210> 546

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CNK (NM\_004073).

<400> 546

gcgcgagaag atcctaaat 19

<210> 547

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK1 (NM\_003384).

<400> 547

ccttgggagg ataatttga 19

<210> 548

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK1 (NM\_003384).

<400> 548

cttccttggg aggataatt 19

⟨210⟩ 549

166/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK1 (NM\_003384).

⟨400⟩ 549

caccttgtgt tgtaaaagt

19

<210> 550

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK1 (NM\_003384).

<400> 550

cttgggagga taatttgaa

19

<210> 551

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK1 (NM\_003384).

<400> 551

gttacaggtt tatgataat

19

<210> 552

<211> 19

<212> DNA

167/269

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for VRK1 (NM\_003384).

⟨400⟩ 552

gcagctaagc ttaagaatt

19

⟨210⟩ 553

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK1 (NM\_003384).

<400> 553

ggactaaaag ctataggaa

19

<210> 554

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK2 (NM\_006296).

<400> 554

gactaggaat agatttaca

19

⟨210⟩ 555

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK2 (NM\_006296).

168/269

caagacatgt agtaaaagt 19

<210> 556

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK2 (NM\_006296).

<400> 556

ggtatgtgct catagttta 19

<210> 557

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK2 (NM\_006296).

<400> 557

ggtttatctt gcagattat 19

<210> 558

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{\langle 223\rangle}}$  siRNA target sequence for VRK2 (NM\_006296).

<400> 558

ggatttggat tgatatatt 19

169/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK2 (NM\_006296).

<400> 559

ggactttcct acagatatt

19

<210> 560

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK2 (NM\_006296).

<400> 560

cataatggga caatagagt

19

<210> 561

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for VRK2 (NM\_006296).

<400> 561

ctacagatat tgtcccaat

19

⟨210⟩ 562

<211> 19

<212> DNA

170/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP3K6 (NM\_004672).

<400> 562

ctttctcctc cgaactttt

19

⟨210⟩ 563

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for MAP3K6 (NM\_004672).

<400> 563

gatgttggag tttgattat

19

<210> 564

〈211〉 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP3K6 (NM\_004672).

<400> 564

caaagagctc cggctaata

19

<210> 565

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP3K6 (NM\_004672).

171/269

19 ccctgcggga ggatgtttt <210> 566 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> ⟨223⟩ siRNA target sequence for MAP3K6 (NM\_004672). <400> 566 19 gccgagcagc ataatgtct <210> 567 (211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for MAP3K6 (NM\_004672). <400> 567 19 ggactactcg gccatcatt

<210> 568

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\scriptsize <223>}$  siRNA target sequence for MAP3K6 (NM\_004672).

<400> 568

ctatttccgg gagaccatt 19

172/269

(211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for MAP3K6 (NM\_004672). <400> 569 19 ggctgctcaa gatttctga ⟨210⟩ 570 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for MAP3K5 (NM\_005923). <223> <400> 570 19 gatccactga ccgaaaaat <210> 571 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>  $\ensuremath{\texttt{<}223\texttt{>}}$  siRNA target sequence for MAP3K5 (NM\_005923). <400> 571 19 caggaaagct cgtaattta

<210> 572

<211> 19

<212> DNA

173/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP3K5 (NM\_005923).

<400> 572

ggaaagctcg taatttata

19

⟨210⟩ 573

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP3K5 (NM\_005923).

<400> 573

gtacctcaag tctattgta

19

<210> 574

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP3K5 (NM\_005923).

<400> 574

ctggtaccct ccagtatat

19

<210> 575

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MST1 (NM\_020998).

174/269

ccgatttacg ccagaaaaa 19

<210> 576 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens

 $\langle 220 \rangle$   $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for MST1 (NM\_020998).

<400> 576
cgatttacgc cagaaaaat 19

<210> 577
<211> 19
<212> DNA
<213> Homo sapiens

<220>
<223> siRNA target sequence for MST1 (NM\_020998).

<400> 577

gatttacgcc agaaaaata 19

<210> 578 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>

<223> siRNA target sequence for MST1 (NM\_020998).

ggtctggacg acaactatt 19

⟨210⟩ 579

175/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MST1 (NM\_020998).

<400> 579

ccaaaggtac gggtaatga

19

⟨210⟩ 580

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for STK24 (NM\_003576).

<400> 580

gctccgcact agatctatt

19

⟨210⟩ 581

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for STK24 (NM\_003576).

<400> 581

ctccgcacta gatctatta

19

<210> 582

⟨211⟩ 19

<212> DNA

176/269

19

<220>

<223> siRNA target sequence for STK24 (NM\_003576).

<400> 582

ccgcactaga tctattaga

<210> 583

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for STK24 (NM\_003576).

⟨400⟩ 583

cgcactagat ctattagaa 19

<210> 584

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for STK24 (NM\_003576).

<400> 584

ctccattcgg agaagaaaa 19

<210> 585

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for STK24 (NM\_003576).

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

177/269

19 gttcaaaggc attgacaat ⟨210⟩ 586 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for MST4 (NM\_016542). <400> 586 19 ctgatagatc gttttaaga ⟨210⟩ 587 <211> 19 <212> DNA <213> Ilomo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for MST4 (NM\_016542). <400> 587 19 gcaagtcgtt gctattaaa ⟨210⟩ 588 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for MST4 (NM\_016542). <400> 588 19 gaagaactcg agaaaagta

⟨210⟩ 589

178/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MST4 (NM\_016542).

⟨400⟩ 589

ggctcctgaa gttattcaa

19

⟨210⟩ 590

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MST4 (NM\_016542).

<400> 590

gggaattact gctattgaa

19

⟨210⟩ 591

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Ilomo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MST4 (NM\_016542).

<400> 591

caatgagagt tctgtttct

19

⟨210⟩ 592

<211> 19

<212> DNA

179/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MST4 (NM\_016542).

<400> 592

gataatcaca cctgcattt

19

⟨210⟩ 593

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK1 (NM\_002576).

<400> 593

gcccctccga tgagaaata

19

<210> 594

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{<}223\texttt{>}}$  siRNA target sequence for PAK1 (NM\_002576).

<400> 594

ggcgatccta agaagaaat

19

<210> 595

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK1 (NM\_002576).

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

180/269

19 caaataacgg cctagacat <210> 596 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> ⟨223⟩ siRNA target sequence for PAK1 (NM\_002576). <400> 596 19 ccgattttac cgatccatt <210> 597 (211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for PAK1 (NM\_002576). <400> 597 19 gggttgttat ggaatactt <210> 598 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for PAK1 (NM\_002576). <400> 598 19 catcaagagt gacaatatt

<210> 599

181/269

⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for PAK1 (NM\_002576). <400> 599 19 gctgtgggtt gttatggaa ⟨210⟩ 600 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for PAK2 (NM\_002577). <400> 600 19 cataggtgac cctaagaaa ⟨210⟩ 601 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for PAK2 (NM\_002577).

<400> 601

19 cccaacatcg ttaactttt

<210> 602

(211) 19

<212> DNA

182/269

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK2 (NM\_002577).

⟨400⟩ 602

ccaacatcgt taacttttt

19

⟨210⟩ 603

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK2 (NM\_002577).

<400> 603

ccggatcata cgaaatcaa

19

<210> 604

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK2 (NM\_002577).

<400> 604

cggatcatac gaaatcaat

19

⟨210⟩ 605

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK3 (NM\_002578).

183/269

catcettega gtacaaaaa 19

<210> 606

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK3 (NM\_002578).

<400> 606

ctgtattccg tgacttttt 19

⟨210⟩ 607

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK3 (NM\_002578).

<400> 607

gtattccgtg actttttaa 19

<210> 608

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK3 (NM\_002578).

<400> 608

cacagategg caaagaaaa 19

⟨210⟩ 609

184/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK3 (NM\_002578).

<400> 609

ctgacggtct ggataatga

19

<210> 610

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK3 (NM\_002578).

<400> 610

ccccttacc ttaatgaaa

19

⟨210⟩ 611

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK3 (NM\_002578).

⟨400⟩ 611

cagactttga gcatacgat

19

⟨210⟩ 612

<211> 19

<212> DNA

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

185/269

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK3 (NM\_002578).

⟨400⟩ 612

19 gcagtcaccg gggaattca

(210) 613

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{\langle 223\rangle}}$  siRNA target sequence for PAK4 (NM\_005884).

<400> 613

19 gggataatgg tgattgaga

(210) 614

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for PAK4 (NM\_005884).

<400> 614

19 ggataatggt gattgagat

<210> 615

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

siRNA target sequence for PAK4 (NM\_005884). <223>

186/269

gccacagcga gtatcccat 19

⟨210⟩ 616

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK4 (NM\_005884).

<400> 616

cagcacgagc agaagttca 19

<210> 617

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PAK4 (NM\_005884).

<400> 617

ggtcgctggg gataatggt 19

⟨210⟩ 618

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K1 (NM\_002755).

<400> 618

ggccagaaag ctaattcat 19

<210> 619

187/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K1 (NM\_002755).

<400> 619

gcgatggcga gatcagtat

19

⟨210⟩ 620

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K1 (NM\_002755).

<400> 620

gatggcgaga tcagtatct

19

<210> 621

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K1 (NM\_002755).

<400> 621

ctacatgtcg ccagaaaga

19

⟨210⟩ 622

⟨211⟩ 19

<212> DNA

188/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K1 (NM\_002755).

<400> 622

ccaccatcgg ccttaacca

19

⟨210⟩ 623

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K1 (NM\_002755).

<400> 623

gacctcccat ggcaatttt

19

⟨210⟩ 624

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K1 (NM\_002755).

<400> 624

ctcccatggc aatttttga

19

⟨210⟩ 625

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K1 (NM\_002755).

⟨400⟩ 625

189/269

cgacctccca tggcaattt 19

⟨210⟩ 626

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K2 (NM\_030662).

<400> 626

gccggctggt tgtgtaaaa 19

〈210〉 627

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K2 (NM\_030662).

<400> 627

caaggtcggc gaactcaaa 19

⟨210⟩ 628

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K2 (NM\_030662).

⟨400⟩ 628

ctcctggact atattgtga 19

⟨210⟩ 629

190/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K2 (NM\_030662).

<400> 629

ccaaggtcgg cgaactcaa

19

<210> 630

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K2 (NM\_030662).

<400> 630

ggttgcaggg cacacatta

19

<210> 631

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K3 (NM\_002756).

⟨400⟩ 631

cgcacggtcg actgtttct

19

<210> 632

⟨211⟩ 19

<212> DNA

191/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K3 (NM\_002756).

⟨400⟩ 632

gcacggtcga ctgtttcta

19

⟨210⟩ 633

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K3 (NM\_002756).

<400> 633

ctacggggca ctattcaga

19

<210> 634

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K3 (NM\_002756).

⟨400⟩ 634

ccttctacgg ggcactatt

19

<210> 635

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K3 (NM\_002756).

192/269

gactecegga cetteatea 19

⟨210⟩ 636

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K3 (NM\_002756).

<400> 636

gagcctatgg ggtggtaga 19

<210> 637

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for MAP2K3 (NM\_002756).

<400> 637

ctggactccc ggaccttca 19

<210> 638

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K3 (NM\_002756).

<400> 638

gaggetgatg acttggtga 19

<210> 639

193/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K6 (NM\_002758).

⟨400⟩ 639

ggatacatca ctagataaa

19

<210> 640

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K6 (NM\_002758).

<400> 640

gatacatcac tagataaat

19

(210) 641

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K6 (NM\_002758).

<400> 641

cttcgatttc cctatgatt

19

<210> 642

⟨211⟩ 19

<212> DNA

194/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K6 (NM\_002758).

<400> 642

cttttatggc gcactgttt

19

<210> 643

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K6 (NM\_002758).

<400> 643

catcactaga taaattcta 19

⟨210⟩ 644

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K6 (NM\_002758).

<400> 644

ggacggtgga ctgtccatt 19

⟨210⟩ 645

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K6 (NM\_002758).

195/269

caaacaagtt attgataaa 19

⟨210⟩ 646

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for MAP2K6 (NM\_002758).

<400> 646

ctacaaacaa gttattgat 19

<210> 647

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{<}223\texttt{>}}$  siRNA target sequence for MAP2K4 (NM\_003010).

<400> 647

ctacctcgtt tgataagtt 19

<210> 648

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for MAP2K4 (NM\_003010).

<400> 648

gcatgctatg tttgtaaaa 19

<210> 649

196/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K4 (NM\_003010).

⟨400⟩ 649

ccaaaaggcc aaagtataa

19

⟨210⟩ 650

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K4 (NM\_003010).

<400> 650

cgcatgctat gtttgtaaa

19

<210> 651

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K4 (NM\_003010).

<400> 651

caaaaggcca aagtataaa

19

<210> 652

<211> 19

<212> DNA

197/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MAP2K4 (NM\_003010).

⟨400⟩ 652

gtaatgcgga gtagtgatt

19

⟨210⟩ 653

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for IRAK4 (NM\_016123).

<400> 653

gccaatgtcg gcatgaaaa

19

<210> 654

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for IRAK4 (NM\_016123).

<400> 654

gctttgcgtg gagaaataa

19

<210> 655

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for IRAK4 (NM\_016123).

198/269

ctcaatgttg gactaatta 19

⟨210⟩ 656

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for IRAK4 (NM\_016123).

<400> 656

cctctgctta gtatatgtt 19

⟨210⟩ 657

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for IRAK4 (NM\_016123).

<400> 657

gttattgcta gatattaaa 19

⟨210⟩ 658

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RAF1 (NM\_002880).

<400> 658

gatcttagta agctatata 19

<210> 659

199/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RAF1 (NM\_002880).

⟨400⟩ 659

gcatgactgc cttatgaaa

19

⟨210⟩ 660

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RAF1 (NM\_002880).

<400> 660

ctatggcatc gtattgtat

19

<210> 661

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\scriptsize <223>}$  siRNA target sequence for RAF1 (NM\_002880).

<400> 661

cttagtaagc tatataaga

19

<210> 662

<211> 19

<212> DNA

200/269

<220>

<223> siRNA target sequence for RAF1 (NM\_002880).

<400> 662

cagacaactc ttattgttt

19

<210> 663

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ACVRL1 (NM\_000020).

⟨400⟩ 663

caagaagaca ctacaaaaa

19

<210> 664

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ACVRL1 (NM\_000020).

<400> 664

gagactgaga tctataaca

19

<210> 665

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ACVRL1 (NM\_000020).

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

201/269

19 gaagacacta caaaaaatt <210> 666 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> ⟨223⟩ siRNA target sequence for ACVRL1 (NM\_000020). <400> 666 19 gagatctata acacagtat ⟨210⟩ 667 (211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for ACVRL1 (NM\_000020). <400> 667 19 gctccctcta cgactttct ⟨210⟩ 668 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>  $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for ACVR1 (NM\_001105). <400> 668 cacagcactg cgtatcaaa 19

<210> 669

202/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for ACVR1 (NM\_001105).

⟨400⟩ 669

gttgctctcc gaaaattta

19

<210> 670

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ACVR1 (NM\_001105).

<400> 670

gctctccgaa aatttaaaa

19

<210> 671

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for ACVR1 (NM\_001105).

⟨400⟩ 671

gcactgcgta tcaaaaaga

19

⟨210⟩ 672

⟨211⟩ 19

<212> DNA

203/269

<220>

<223> siRNA target sequence for ACVR1 (NM\_001105).

⟨400⟩ 672

cagcactgcg tatcaaaaa

19

⟨210⟩ 673

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ACVR1 (NM\_001105).

<400> 673

caatgaccca agttttgaa

19

⟨210⟩ 674

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ACVR1 (NM\_001105).

<400> 674

gtteteagae eegacatta

19

<210> 675

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ACVR1 (NM\_001105).

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

204/269

19 caaggggact ggtgtaaca <210> 676 (211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ACVR1B (NM\_004302). <400> 676 19 cccgaaccat cgttttaca <210> 677 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ACVR1B (NM\_004302). <400> 677 19 ccgaaccatc gttttacaa ⟨210⟩ 678 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ACVR1B (NM\_004302). <400> 678 19 caattgaggg gatgattaa

⟨210⟩ 679

205/269

(211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ACVR1B (NM\_004302). <400> 679 19 cacgggtccc tgtttgatt ⟨210⟩ 680 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for ACVR1B (NM\_004302). <400> 680 19 cgggtccctg tttgattat ⟨210⟩ 681 <211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ACVR1B (NM\_004302).

<400> 681

19 gggtggggac caaacgata

⟨210⟩ 682

<211> 19

<212> DNA

206/269

<220>

<223> siRNA target sequence for ACVR1B (NM\_004302).

<400> 682

cetggetgte egteatgat 19

<210> 683

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for ACVR1B (NM\_004302).

⟨400⟩ 683

gtggggacca aacgataca 19

⟨210⟩ 684

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ACVR1C (NM\_145259).

<400> 684

ctgctcttcg tattaagaa 19

⟨210⟩ 685

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{<}223\texttt{>}}$  siRNA target sequence for ACVR1C (NM\_145259).

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

207/269

19 gctcatcgag acataaaat ⟨210⟩ 686 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ACVR1C (NM\_145259). ⟨400⟩ 686 19 gctccttata tgactattt <210> 687 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for ACVR1C (NM\_145259). <400> 687 19 catcgagaca taaaatcaa ⟨210⟩ 688 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for ACVR1C (NM\_145259). <400> 688 gtaccaattg ccttattat 19

⟨210⟩ 689

208/269

<211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for TGFBR1 (NM\_004612). ⟨400⟩ 689 19 cgagataggc cgtttgtat ⟨210⟩ 690 (211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for TGFBR1 (NM\_004612). <400> 690 19 gcattgcgga ttaagaaaa ⟨210⟩ 691 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>  $\ensuremath{\texttt{<}223\texttt{>}}\xspace$  siRNA target sequence for TGFBR1 (NM\_004612). <400> 691 19 ccatcgagtg ccaaatgaa

<210> 692

<211> 19

<212> DNA

209/269

<220>

<223> siRNA target sequence for TGFBR1 (NM\_004612).

⟨400⟩ 692

cattagatcg cccttttat

19

⟨210⟩ 693

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TGFBR1 (NM\_004612).

<400> 693

cagcattgcg gattaagaa

19

<210> 694

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TGFBR1 (NM\_004612).

⟨400⟩ 694

gttggtgtca gattatcat

19

<210> 695

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TGFBR1 (NM\_004612).

⟨400⟩ 695

210/269

caacatattg ctgcaatca 19

<210> 696

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for TGFBR1 (NM\_004612).

<400> 696

gattatcatg agcatggat 19

<210> 697

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for EIF2AK3 (NM\_004836).

<400> 697

catagcaaca acgtttatt 19

⟨210⟩ 698

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for EIF2AK3 (NM\_004836).

<400> 698

catatgataa tggttatta 19

211/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for EIF2AK3 (NM\_004836).

⟨400⟩ 699

ggtaatgcga gaagttaaa

19

<210> 700

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for EIF2AK3 (NM\_004836).

<400> 700

ctaatgaaaa cgcaattat

19

<210> 701

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for EIF2AK3 (NM\_004836).

<400> 701

ctttgaactt cggtatatt

19

<210> 702

⟨211⟩ 19

<212> DNA

212/269

<220>

<223> siRNA target sequence for EIF2AK3 (NM\_004836).

<400> 702

cactttgaac ttcggtata

19

⟨210⟩ 703

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for EIF2AK3 (NM\_004836).

<400> 703

gaatgggagt accagtttt

19

<210> 704

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ERN1 (NM\_001433).

<400> 704

cattgcacga gaattgata

19

<210> 705

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ERN1 (NM\_001433).

213/269

19 caggctgcgt cttttacta <210> 706 (211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>  $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for ERN1 (NM\_001433). <400> 706 19 cgtgagcgac agaatagaa <210> 707 <211> 19 <212> DNA <213> Ilomo sapiens <220>  $\ensuremath{\texttt{<223>}}\xspace$  siRNA target sequence for ERN1 (NM\_001433). <400> 707 19 ccaaacatcg ggaaaatgt <210> 708 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for ERN1 (NM\_001433). <223> <400> 708 19 ggacatctgg tatgttatt

214/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ERN1 (NM\_001433).

⟨400⟩ 709

cccatgccga agttcagat

19

<210> 710

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ERN1 (NM\_001433).

<400> 710

ctacacggtg gacatcttt

19

<210> 711

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ERN1 (NM\_001433).

⟨400⟩ 711

gccgaagttc agatggaat

19

<210> 712

<211> 19

<212> DNA

215/269

<220>

<223> siRNA target sequence for CHUK (NM\_001278).

<400> 712

ggagaagttc ggtttagta

19

<210> 713

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for CHUK (NM\_001278).

<400> 713

ggccctcagt aatatcaaa

19

<210> 714

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHUK (NM\_001278).

<400> 714

gacctgttga ccttacttt

19

<210> 715

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for CHUK (NM\_001278).

216/269

ggccatttaa gcactatta 19 ⟨210⟩ 716 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for CHUK (NM\_001278). <400> 716 19 gccatttaag cactattat <210> 717 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for CHUK (NM\_001278). <400> 717 19 ctggatatag gcctttttt ⟨210⟩ 718 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for CHUK (NM\_001278). <400> 718 19 gttaagtctt cttagatat

217/269 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> ⟨223⟩ siRNA target sequence for CHUK (NM\_001278). <400> 719 gtttatctga ttgtgtaaa 19 <210> 720 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for IKBKE (NM\_014002). <400> 720 19 catcgaacgg ctaaataga <210> 721 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for IKBKE (NM\_014002). <400> 721 19 ctggataagg tgaatttca <210> 722

<211> 19

<212> DNA

218/269

19

<220>

<223> siRNA target sequence for IKBKE (NM\_014002).

<400> 722

cctgcatccc gacatgtat

⟨210⟩ 723

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for IKBKE (NM\_014002).

⟨400⟩ 723

ctgcaggcgg attacaaca 19

<210> 724

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for IKBKE (NM\_014002).

<400> 724

ggataaggtg aatttcagt 19

<210> 725

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for IKBKE (NM\_014002).

219/269

ccactgccag tgtgtacaa 19

⟨210⟩ 726

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SYK (NM\_003177).

<400> 726

caatgacece getettaaa 19

(210) 727

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SYK (NM\_003177).

<400> 727

cagctagtcg agcattatt 19

<210> 728

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SYK (NM\_003177).

<400> 728

ggtcagcggg tggaataat 19

⟨210⟩ 729

220/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SYK (NM\_003177).

<400> 729

gctagtcgag cattattct

19

<210> 730

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for SYK (NM\_003177).

<400> 730

gacatgtcaa ggataagaa

19

⟨210⟩ 731

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\ensuremath{\texttt{\langle 223\rangle}}$  siRNA target sequence for SYK (NM\_003177).

<400> 731

gctgatgaaa actactaca

19

<210> 732

⟨211⟩ 19

<212> DNA

221/269

<220>

<223> siRNA target sequence for SYK (NM\_003177).

<400> 732

gacacagagg tgtacgaga

19

<210> 733

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for SYK (NM\_003177).

<400> 733

ctgatgaaaa ctactacaa

19

<210> 734

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PTK2 (NM\_153831).

<400> 734

gaagagcgat tatatgtta

19

<210> 735

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PTK2 (NM\_153831).

222/269

gtaatcggtc gaattgaaa 19

⟨210⟩ 736

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PTK2 (NM\_153831).

<400> 736

caatggagcg agtattaaa 19

⟨210⟩ 737

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PTK2 (NM\_153831).

<400> 737

ctggaccggt cgaatgata 19

<210> 738

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PTK2 (NM\_153831).

<400> 738

gcaatggagc gagtattaa 19

223/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PTK2 (NM\_153831).

<400> 739

ctccagagtc aatcaattt

19

<210> 740

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

(223) siRNA target sequence for PTK2 (NM\_153831).

<400> 740

gctccagagt caatcaatt

19

<210> 741

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PTK2 (NM\_153831).

<400> 741

gttggtttaa agcgatttt

19

<210> 742

⟨211⟩ 19

<212> DNA

224/269

<220>

<223> siRNA target sequence for PTK2B (NM\_173174).

⟨400⟩ 742

ggtcctgaat cgtattctt

19

⟨210⟩ 743

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PTK2B (NM\_173174).

<400> 743

ccccagagtc cattaactt

19

<210> 744

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PTK2B (NM\_173174).

<400> 744

ggacgaggac tattacaaa

19

<210> 745

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for PTK2B (NM\_173174).

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

225/269

19 gacccatgg tttatatga <210> 746 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> ⟨223⟩ siRNA target sequence for PTK2B (NM\_173174). <400> 746 ggaggtatga ccttcaaat 19 (210) 747 (211) 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> ⟨223⟩ siRNA target sequence for PTK2B (NM\_173174). <400> 747 19 gcagcataga gtcagacat ⟨210⟩ 748 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for PTK2B (NM\_173174). ⟨400⟩ 748 19 gtggaggtat gaccttcaa

226/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ROS1 (NM\_002944).

<400> 749

gaagctggac ttatactaa

19

⟨210⟩ 750

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ROS1 (NM\_002944).

<400> 750

gacatggatt ggtataaca

19

<210> 751

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ROS1 (NM\_002944).

<400> 751

cgaaaggcga cgtttttgt

19

<210> 752

<211> 19

<212> DNA

227/269

<220>

<223> siRNA target sequence for ROS1 (NM\_002944).

<400> 752

caagccaagc gaatcattt

19

⟨210⟩ 753

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ROS1 (NM\_002944).

<400> 753

ggaagctgga cttatacta

19

<210> 754

〈211〉 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ROS1 (NM\_002944).

<400> 754

ctgtcactcc ttataccta

19

<210> 755

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ROS1 (NM\_002944).

228/269

ctttctgtca ctccttata 19

⟨210⟩ 756

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for ROS1 (NM\_002944).

<400> 756

caacatgtct gatgtatct

19

<210> 757

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ALK (NM\_004304).

<400> 757

ccacctacgt atttaagat 19

<210> 758

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ALK (NM\_004304).

<400> 758

cctgtatacc ggataatga 19

⟨210⟩ 759

229/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ALK (NM\_004304).

⟨400⟩ 759

gccacctacg tatttaaga

19

<210> 760

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ALK (NM\_004304).

<400> 760

cgctttgccg atagaatat

19

<210> 761

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ALK (NM\_004304).

⟨400⟩ 761

gccacgggga agtgaatat

19

⟨210⟩ 762

⟨211⟩ 19

<212> DNA

230/269

<220>

<223> siRNA target sequence for ALK (NM\_004304).

<400> 762

ccatcatgac cgactacaa

19

<210> 763

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ALK (NM\_004304).

<400> 763

caatgacccc gaaatggat

19

<210> 764

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for ALK (NM\_004304).

<400> 764

ccggcatcat gattgtgta

19

<210> 765

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MET (NM\_000245).

231/269

gaacagcgag ctaaatata 19 ⟨210⟩ 766 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> ⟨223⟩ siRNA target sequence for MET (NM\_000245). <400> 766 cagcgcgttg acttattca 19 <210> 767 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for MET (NM\_000245). <400> 767 gtgcattccc tatcaaata 19 <210> 768 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for MET (NM\_000245). <400> 768 19 gattcttacc ccattaagt

232/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MET (NM\_000245).

⟨400⟩ 769

caaagcgatg aaatatctt

19

<210> 770

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MET (NM\_000245).

<400> 770

catttggata ggcttgtaa

19

<210> 771

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for MET (NM\_000245).

<400> 771

ctctagatgc tcagacttt

19

<210> 772

⟨211⟩ 19

<212> DNA

233/269

<220>

<223> siRNA target sequence for MET (NM\_000245).

<400> 772

gttaaaggtg aagtgttaa

19

<210> 773

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for NTRK1 (NM\_002529).

<400> 773

gcatcctgta ccgtaagtt

19

<210> 774

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for NTRK1 (NM\_002529).

<400> 774

ggctcagtcg cctgaatct

19

<210> 775

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for NTRK1 (NM\_002529).

234/269

ctcagtcgcc tgaatctct 19

<210> 776

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for NTRK1 (NM\_002529).

<400> 776

ggctccgtgc tcaatgaga 19

<210> 777

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for NTRK1 (NM\_002529).

<400> 777

ggtcaagatt ggtgatttt 19

⟨210⟩ 778

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for NTRK2 (NM\_006180).

<400> 778

caattttacc cgaaacaaa 19

235/269

⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for NTRK2 (NM\_006180). <400> 779 19 catcaagcga cataacatt <210> 780 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for NTRK2 (NM\_006180). <400> 780 19 gtgatccggt tcctaatat ⟨210⟩ 781 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for NTRK2 (NM\_006180). <400> 781 19 gatccggttc ctaatatgt <210> 782

⟨211⟩ 19

<212> DNA

236/269

<220>

<223> siRNA target sequence for NTRK2 (NM\_006180).

⟨400⟩ 782

cttgtgtggc ggaaaatct

19

⟨210⟩ 783

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for NTRK2 (NM\_006180).

<400> 783

cctgcagata cccaattgt

19

<210> 784

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for NTRK2 (NM\_006180).

<400> 784

ctggtgcatt ccattcact

19

<210> 785

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for NTRK2 (NM\_006180).

237/269

cacagggctc cttaaggat 19

⟨210⟩ 786

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for INSR (NM\_000208).

<400> 786

gccctgtgac gcatgaaat 19

<210> 787

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for INSR (NM\_000208).

<400> 787

ctgtgacgca tgaaatctt 19

⟨210⟩ 788

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for INSR (NM\_000208).

<400> 788

gcatggtcgc ccatgattt 19

238/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for INSR (NM\_000208).

⟨400⟩ 789

catggtcgcc catgatttt

19

⟨210⟩ 790

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for INSR (NM\_000208).

<400> 790

ggatcacgac tgttcttta

19

<210> 791

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for INSR (NM\_000208).

<400> 791

gattggaagt atttatcta

19

<210> 792

⟨211⟩ 19

<212> DNA

239/269

<220>

<223> siRNA target sequence for INSR (NM\_000208).

<400> 792

caccaatacg tcattcaca

19

<210> 793

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for INSR (NM\_000208).

<400> 793

cggacatctt ttgacaaga

19

<210> 794

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for RET (NM\_000323).

<400> 794

gcttgtcccg agatgttta

19

<210> 795

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RET (NM\_000323).

240/269

catctgactc cctgattta 19

<210> 796

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RET (NM\_000323).

<400> 796

ctgactccct gatttatga 19

(210) 797

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RET (NM\_000323).

<400> 797

cttgtcccga gatgtttat 19

<210> 798

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RET (NM\_000323).

<400> 798

gggtcggatt ccagttaaa 19

241/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RET (NM\_000323).

⟨400⟩ 799

ccacatggat tgaaaacaa

19

<210> 800

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RET (NM\_000323).

<400> 800

cttccacatg gattgaaaa

19

⟨210⟩ 801

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for RET (NM\_000323).

⟨400⟩ 801

ccttccacat ggattgaaa

19

<210> 802

<211> 19

<212> DNA

242/269

<220>

<223> siRNA target sequence for TYR03 (NM\_006293).

⟨400⟩ 802

gcatcagcga tgaactaaa

19

⟨210⟩ 803

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TYRO3 (NM\_006293).

<400> 803

gaaaacgctg agatttaca

19

<210> 804

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TYR03 (NM\_006293).

⟨400⟩ 804

gccaggaccc cttatacat

19

<210> 805

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for TYRO3 (NM\_006293).

243/269

19 gaccccttat acatcaaca ⟨210⟩ 806 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for TYRO3 (NM\_006293). ⟨400⟩ 806 19 ggcatcagcg atgaactaa <210> 807 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for FLT4 (NM\_182925). <400> 807 19 gtgtgggctg agtttaact ⟨210⟩ 808 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220>

(220)

<223> siRNA target sequence for FLT4 (NM\_182925).

<400> 808

ccgtgtgggc tgagtttaa 19

(210) 809

244/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FLT4 (NM\_182925).

⟨400⟩ 809

ggcctgaggc gcaacatca

19

<210> 810

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FLT4 (NM\_182925).

<400> 810

gcaagaacgt gcatctgtt

19

⟨210⟩ 811

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FLT4 (NM\_182925).

<400> 811

gacctgggct cgtatgtgt

19

<210> 812

<211> 19

<212> DNA

245/269

<220>

<223> siRNA target sequence for FLT4 (NM\_182925).

⟨400⟩ 812

cggctcacgc agaacttga

19

⟨210⟩ 813

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FLT4 (NM\_182925).

⟨400⟩ 813

gctactacaa gtacatcaa

19

<210> 814

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FLT3 (NM\_004119).

<400> 814

gtgagacgat ccttttaaa

19

<210> 815

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FLT3 (NM\_004119).

246/269

19 gattggctcg agatatcat ⟨210⟩ 816 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for FLT3 (NM\_004119). ⟨400⟩ 816 19 gagacgatcc ttttaaact <210> 817 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for FLT3 (NM\_004119). <400> 817 19 ccgctgctcg ttgtttttt ⟨210⟩ 818 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FLT3 (NM\_004119).

<400> 818

gttcacaata gatctaaat 19

247/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FLT3 (NM\_004119).

⟨400⟩ 819

gtgatcaagt gtgttttaa

19

<210> 820

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FLT3 (NM\_004119).

<400> 820

ggtgtcgagc agtactcta

19

<210> 821

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FLT3 (NM\_004119).

⟨400⟩ 821

ggctaacaga aaagtgttt

19

⟨210⟩ 822

⟨211⟩ 19

<212> DNA

248/269

<220>

 $\ensuremath{\scriptsize <223>}$  siRNA target sequence for KDR (NM\_002253).

<400> 822

gaaagttacc agtctatta

19

⟨210⟩ 823

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for KDR (NM\_002253).

⟨400⟩ 823

gagcacctta actatagat

<210> 824

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for KDR (NM\_002253).

<400> 824

gaatcagacg acaagtatt

⟨210⟩ 825

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for KDR (NM\_002253).

249/269

gtaaaccgag acctaaaaa 19

<210> 826

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for KDR (NM\_002253).

<400> 826

ggacagtagc agtcaaaat

19

<210> 827

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for KDR (NM\_002253).

<400> 827

gtggctaagg gcatggagt 19

⟨210⟩ 828

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for KDR (NM\_002253).

⟨400⟩ 828

ccaaattcca ttatgacaa 19

<210> 829

250/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for KDR (NM\_002253).

<400> 829

cccaaattcc attatgaca

19

⟨210⟩ 830

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PDGFRB (NM\_002609).

<400> 830

ggtgggcaca ctacaattt

19

<210> 831

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PDGFRB (NM\_002609).

<400> 831

gttgggcgaa ggttacaaa

19

⟨210⟩ 832

⟨211⟩ 19

<212> DNA

251/269

<220>

<223> siRNA target sequence for PDGFRB (NM\_002609).

⟨400⟩ 832

ctttctcacg gaaataact

19

⟨210⟩ 833

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PDGFRB (NM\_002609).

<400> 833

gacacgggag aatactttt

19

<210> 834

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PDGFRB (NM\_002609).

<400> 834

gtgacaacga ctatatcat

19

<210> 835

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PDGFRB (NM\_002609).

252/269

catccatcaa cgtctctgt 19

⟨210⟩ 836

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PDGFRB (NM\_002609).

<400> 836

cctccgacga gatctatga 19

<210> 837

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for YES1 (NM\_005433).

<400> 837

gaaatcaacg aggtatttt 19

⟨210⟩ 838

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for YES1 (NM\_005433).

<400> 838

cacaaccaga gcacaattt 19

<210> 839

253/269 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> ⟨223⟩ siRNA target sequence for YES1 (NM\_005433). ⟨400⟩ 839 19 gtatggtcgg tttacaata ⟨210⟩ 840 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> siRNA target sequence for YES1 (NM\_005433). <400> 840 19 ctgtatggtc ggtttacaa ⟨210⟩ 841 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for YES1 (NM\_005433). ⟨400⟩ 841 19 ggttatatcc cgagcaatt

<210> 842

⟨211⟩ 19

<212> DNA

254/269

<220>

<223> siRNA target sequence for YES1 (NM\_005433).

<400> 842

caagaagctc agataatga

19

⟨210⟩ 843

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for YES1 (NM\_005433).

<400> 843

gggctgcatt aaaagtaaa

19

<210> 844

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for YES1 (NM\_005433).

⟨400⟩ 844

ctgcattaaa agtaaagaa

19

⟨210⟩ 845

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FES (NM\_002005).

PCT/JP2003/014893 WO 2004/048566

255/269

19 gattggacgg gggaacttt ⟨210⟩ 846 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for FES (NM\_002005). <400> 846 19 cacctgaggc ccttaacta (210) 847 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for FES (NM\_002005). <400> 847 19 ggctttccta gcattcctt <210> 848 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for FES (NM\_002005). <400> 848 19 gaatacctgg agattagca

256/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for FES (NM\_002005).

⟨400⟩ 849

ctactggagg gcatgagaa

19

<210> 850

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for BCL2 (NM\_000633).

<400> 850

gatgaagtac atccattat

19

⟨210⟩ 851

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for BCL2 (NM\_000633).

⟨400⟩ 851

gtgatgaagt acatccatt

19

⟨210⟩ 852

⟨211⟩ 19

<212> DNA

257/269

<220>

<223> siRNA target sequence for BCL2 (NM\_000633).

⟨400⟩ 852

gagttcggtg gggtcatgt

19

⟨210⟩ 853

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for BCL2 (NM\_000633).

<400> 853

gttcggtggg gtcatgtgt

19

<210> 854

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for BCL2 (NM\_000633).

<400> 854

ggatgactga gtacctgaa

19

<210> 855

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for BIRC4 (NM\_001167).

⟨400⟩ 855

258/269

19 gccacgcagt ctacaaatt ⟨210⟩ 856 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for BIRC4 (NM\_001167). <400> 856 19 gaagcacgga tctttactt <210> 857 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for BIRC4 (NM\_001167). <400> 857 19 gaagaagcta gattaaagt <210> 858 <211> 19 <212> DNA <213> Homo sapiens <220> <223> siRNA target sequence for BIRC4 (NM\_001167). <400> 858 cacatgcaga ctatctttt 19

<210> 859

259/269

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for BIRC4 (NM\_001167).

<400> 859

gaagagttta atagattaa

19

<210> 860

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for BIRC4 (NM\_001167).

<400> 860

gtagaagagt ttaatagat

19

<210> 861

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for BIRC4 (NM\_001167).

<400> 861

ctgtatggat agaaatatt

19

⟨210⟩ 862

⟨211⟩ 19

<212> DNA

260/269

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for BIRC7 (NM\_139317).

⟨400⟩ 862

ctgctccggt caaaaggaa

19

⟨210⟩ 863

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for BIRC7 (NM\_139317).

<400> 863

cctgctccgg tcaaaagga

19

⟨210⟩ 864

<211> 19

<212> DNA

<213> Ilomo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for BIRC7 (NM\_139317).

⟨400⟩ 864

gagaggacgt gcaaggtgt

19

<210> 865

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for BIRC7 (NM\_139317).

261/269

ccgtgtccat cgtctttgt 19

<210> 866

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for BIRC7 (NM\_139317).

<400> 866

cctggacgga gcatgccaa 19

<210> 867

(211) 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PPARA (NM\_005036).

<400> 867

gctaaaatac ggagtttat 19

⟨210⟩ 868

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PPARA (NM\_005036).

<400> 868

ccacceggac gatatettt 19

262/269

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PPARA (NM\_005036).

<400> 869

cttttgtcat acatgatat

19

⟨210⟩ 870

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PPARA (NM\_005036).

<400> 870

cacacaacgc gattcgttt

19

⟨210⟩ 871

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PPARA (NM\_005036).

⟨400⟩ 871

gctggtagcg tatggaaat

19

⟨210⟩ 872

<211> 19

<212> DNA

263/269

<220>

<223> siRNA target sequence for PPARG (NM\_138712).

<400> 872

ggagtccacg agatcattt

19

⟨210⟩ 873

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PPARG (NM\_138712).

<400> 873

ctccctcatg gcaattgaa

19

<210> 874

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PPARG (NM\_138712).

<400> 874

gagtccacga gatcattta

19

<210> 875

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PPARG (NM\_138712).

264/269

ctgtcggatc cacaaaaaa 19

⟨210⟩ 876

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PPARG (NM\_138712).

<400> 876

cagattgaag cttatctat 19

<210> 877

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PPARG (NM\_138712).

<400> 877

gcatctccac cttattatt 19

<210> 878

<211> 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

⟨220⟩

<223> siRNA target sequence for PPARG (NM\_138712).

<400> 878

ggcgagggcg atcttgaca 19

265/269

<211> 19 <212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for PPARG (NM\_138712).

<400> 879

gteetteeeg etgaceaaa 19

⟨210⟩ 880

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Homo sapiens

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for DVL1 (NM\_004421).

<400> 880

ccgtcgtccg ggtcatgca 19

⟨210⟩ 881

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Ilomo sapiens

<220>

<223> siRNA target sequence for DVL2 (NM\_004422).

<400> 881

gtccatacgg acatggcat 19

<210> 882

⟨211⟩ 19

<212> DNA

266/269

<220>

 $\langle 223 \rangle$  siRNA target sequence for DVL3 (NM\_004423).

<400> 882

gcctagacga cttccactt

19

⟨210⟩ 883

(211) 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Human immunodeficiency virus 1.

<400> 883

ggacagatag ggttataga

19

<210> 884

⟨211⟩ 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Human immunodeficiency virus 1.

⟨400⟩ 884

gcgagagcgt cagtattaa

19

⟨210⟩ 885

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

<220>

<223> siRNA target sequence for Human immunodeficiency virus 1.

267/269

19 gtagaccggt tctataaaa <210> 886 <211> 19 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> siRNA target sequence for Human immunodeficiency virus 1. <400> 886 19 cgaccctcg tcacaataa <210> 887 (211) 19 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> siRNA target sequence for Human immunodeficiency virus 1. <400> 887 19 gccctaggtg tgaatatca ⟨210⟩ 888 <211> 19 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> siRNA target sequence for Human immunodeficiency virus 1. <400> 888 19 gcttagggca acatatcta

268/269

⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> siRNA target sequence for Human immunodeficiency virus 1. ⟨400⟩ 889 gaagaactta gatcattat 19 ⟨210⟩ 890 ⟨211⟩ 19 <212> DNA <213> Artificial <220> ⟨223⟩ siRNA target sequence for Human immunodeficiency virus 1. <400> 890 19 gaactgtatc ctttaactt <210> 891 <211> 19 <212> DNA <213> Artificial <220> <223> siRNA target sequence for Human immunodeficiency virus 1. ⟨400⟩ 891 19 gaaagactcc taaatttaa ⟨210⟩ 892 <211> 19

<212> DNA

<213> Artificial

269/269

<220>

 $\ensuremath{\scriptsize{<223>}}\xspace$  siRNA target sequence for Human immunodeficiency virus 1.

<400> 892

cttagggcaa catatctat

19